

**HISTOLOGISCHE, MORPHOLOGISCHE UND
ULTRASTRUKTURELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR POSTNATALEN ONTOGENESE DER
GONADEN DES MÄNNLICHEN RINDES**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Stefanie Dostal
aus
Langquaid

München 1988



Aus dem Institut für Anatomie
der Universität Regensburg

Arbeit angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. med. vet. et rer. nat. K.-H. Wrobel

vorgelegt über
Prof. Dr. med. vet. B. Vollmerhaus
Vorstand des Instituts für Tieranatomie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

HISTOLOGISCHE, MORPHOMETRISCHE UND ULTRASTRUKTURELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR POSTNATALEN ONTOGENESE DER GONADEN DES MÄNNLICHEN RINDES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Stefanie Dostal
aus
Langquaid

München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse
Referent: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Korreferent: Prof. Dr. W. Hermanns

Tag der Promotion: 26. Februar 1988

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	3
2. Material und Methode	
2.1 Versuchstiere	7
2.2 Aufbereitung des Materials	7
2.2.1 Präparation für die lichtmikroskopische Untersuchung	10
2.2.2 Präparation für die elektronenmikroskopische Untersuchung	11
2.2.3 Morphometrische Ermittlung von Tubulusanteil, Interstitium und Tubulusdurchmesser	11
2.2.4 Statistische Auswertung	13
3. Befunde	
3.1 Körpergewicht und Hodenvolumen	15
3.2 Lichtmikroskopische Befunde	
3.2.1 Regionale Unterschiede in der Hodenmorphologie	15
3.2.2 Quantitatives Verhalten des intertubulären Areal in der Ontogenese	19
3.2.3 Verteilung von Zellen und Grundsubstanz im intertubulären Areal	24
3.2.4 Quantitative Erfassung der einzelnen intertubulären Zellarten	26
3.2.5 Quantitativer Anteil von Blut- und Lymphgefäßen	30
3.3 Elektronenmikroskopische Befunde	
3.3.1 Ultrastruktur der mesenchymähnlichen Zellen und ortsständigen Bindegewebszellen	34
3.3.2 Ultrastruktur der Leydigzellen	
3.3.2.1 Adulte Leydigzellgeneration	38
3.3.2.2 Ontogenetische Entwicklung der Leydigzellpopulation	43
3.3.3 Ultrastruktur der Lamina propria	
3.3.3.1 Struktur der Membrana propria ab der 25. Woche	55
3.3.3.2 Ontogenese der Membrana propria von der 4. bis zur 20. Woche	58

3.3.4	Ultrastruktur der mononukleären Zellen	67
4.	Diskussion	
4.1	Korrelation von Alter, Körpergewicht und Hoden- gewicht	74
4.2	Das Verhältnis zwischen Tubuli seminiferi und intertubulärem Areal in der postnatalen Onto- genese	74
4.3	Das Verhalten der Leydigzellen in der postna- talen Ontogenese	76
4.4	Mononukleäre Zellen im Hoden	78
4.5	Lamina propria	80
5.	Zusammenfassung	84
6.	Summary	86
7.	Literaturverzeichnis	88

1. Einleitung

Der Hoden ist ein Organ, dessen Entwicklung zum Zeitpunkt der Geburt noch nicht abgeschlossen ist und der seine volle Funktionsfähigkeit erst nach der Pubertät erlangt. In seiner postnatalen Ontogenese kommt es zu einer Größenzunahme des Organs und zur funktionellen Ausreifung des tubulären und intertubulären Bereiches. Untersuchungen zur postnatalen Ontogenese der männlichen Gonade sind bei einer Reihe von Spezies durchgeführt worden. Trotz intensiver Forschung auf diesem Sektor gibt es noch eine ganze Reihe von ungelösten prinzipiellen Fragen. Diese betreffen einmal die Ausdifferenzierung des intertubulären Kompartimentes, von dem bislang eigentlich nur die Leydigzellpopulation größere Bedeutung gefunden hat, während andere zelluläre Komponenten wie z. B. die mononukleären Zellen nicht berücksichtigt werden. Auch die quantitativen Verschiebungen zwischen undifferenzierten Zellen, Fibrozyten, peritubulären Zellen und Leydigzellen während der Ontogenese sind nicht ausreichend genug bekannt, um eindeutig zu der Frage Stellung nehmen zu können, ob zwischen fetaler und puberal-adulter Leydigzellpopulation ein dritter frühpostnataler Entwicklungsschub dieser hormonproduzierenden Zellen ähnlich wie beim Schwein (Dierichs und Wrobel, 1973; Wrobel et al., 1973) auch bei anderen Spezies anzutreffen ist.

Die tubuläre Lamina propria, eine wichtige funktionelle Komponente des Tubulus seminiferus, entwickelt sich bei den früher untersuchten Spezies, Maus (Ross, 1967), Ratte (Korman und Hovatta, 1972), Schwein (Dierichs und Wrobel, 1973), Schaf (Bustos-Obregon und Courot, 1974) und Kaninchen (Leeson und Forman, 1981) offenbar nach tierartlich variierenden Zeitplänen, und auch die Frage nach der Art der Steuerung ihres Differenzierungsprozesses ist noch nicht zufriedenstellend beantwortet.

Für den adulten Hoden wird von den Untersuchern im allgemeinen eine gleichartige Verteilung der verschiedenen Bestandteile im gesamten Organ angenommen. Ob diese Prämisse auch für den Hoden während der Ontogenese Gültigkeit hat, ist unbewiesen.

Für die Bearbeitung solcher allgemeiner Fragen der Hodenontogenese bietet sich die männliche Gonade des Rindes aus mehreren Gründen als geeignetes Modell an. Die Entwicklung verläuft beim Rind langsamer als bei den hauptsächlich labortieren Ratte, Maus, Kaninchen, Hamster und läßt deshalb Differenzierungsschrit-

te klarer erkennen. Andererseits verläuft sie beim Rind schnell genug, um innerhalb einer überschaubaren Beobachtungszeit (ca. 50 Wochen) alle wichtigen Differenzierungen von der Geburt bis zur vollen Geschlechtsreife zu erfassen. Die Binnenorganisation des Hodenparenchyms von Rind und Mensch ist wesentlich ähnlicher als diejenige von Mensch und Labornagern, so daß gewisse Rückschlüsse auf die menschliche Organogenese möglich und wahrscheinlich sind. Letztlich nimmt die Reproduktionsbiologie des Rindes aufgrund wirtschaftlicher Überlegungen eine prominente Stellung ein, und alle Untersuchungen, die sich damit befassen, sind von grundsätzlicher Wichtigkeit.

Die vorliegende Untersuchung befaßt sich mit der postnatalen Ontogenese des Rinderhodens von der 4. Woche bis zur Geschlechtsreife. Die Untersuchung berücksichtigt etwaige regionale Unterschiede in der Form, daß von jedem Hoden jeweils 3 verschiedene Entnahmestellen (retenah, zentrales Parenchym, subtunikal) herangezogen werden. Das Hauptaugenmerk ist dabei auf die Entwicklung der intertubulären Topographie und der tubulären Membrana propria gelegt. Die ausschließliche Verwendung von perfusionsfixiertem Material soll sicherstellen, daß es während der Materialentnahme nicht zu artefaktuellen Verlagerungen im intertubulären Kompartiment kommen kann.

Abgesehen von der Tunica albuginea und dem zentralen Mediastinum testis mit dem Rete besteht das Hodengewebe vor allem aus einer tubulären und einer intertubulären Komponente. In der Literatur herrscht keine einheitliche Auffassung über die Verteilung dieser beiden Gewebsanteile. Amann (1962) fand beim adulten Bullen eine homogene Verteilung, Humphrey und Ladds (1975) ermittelten dagegen einen signifikant höheren Parenchymanteil in der dorsalen Region. Bis zur Pubertät verändern sich diese beiden Anteile bedingt durch eine Zunahme des Tubulusdurchmessers von $65\mu\text{m}$ in der 12. Woche auf $208\mu\text{m}$ in der 32. Woche (Curtis und Amann, 1981). Ab diesem Zeitraum weisen die von Curtis und Amann (1981) untersuchten Bullen der Rasse Holstein Frisian mit 81% einen gleichbleibenden Tubulusanteil auf. Ein ähnlicher Wert wird auch für die Bullen der Rasse Normande von Attal und Courrot (1963) berichtet.

Von den verschiedenen intertubulären Bauelementen (Gefäße, Bindegewebsfasern, Matrix und Zellen) haben die hormonproduzierenden Leydigzellen bisher die größte Beachtung gefunden. Bei 30mm großen Rinderfeten entwickeln sich im Hoden Mesenchymzellen erstmalig zu Leydigzellen (Bascom, 1923). Die fetale Leydigzellpopulation erreicht ab einer Scheitel-Steiß-Länge von 11 - 12cm ihr Maximum an Zahl und individueller Zellgröße. Zum Zeitpunkt der Geburt kommt es zu einer Regression dieser fetalen Leydigzellen. In der Literatur herrscht keine einheitliche Auffassung darüber, ob die Reduktion auf einer vollständigen Dedifferenzierung zu Mesenchymzellen (Schrag, 1983) oder nur einer partiellen Dedifferenzierung zu Zwischenstufen (Bascom, 1923) beruht. Von Hooker (1944) und Abdel-Raouf (1960) konnten im Hoden neonataler Kälber ausschließlich Mesenchymzellen angetroffen werden.

Die zweite Generation der Leydigzellen des Rindes entwickelt sich postnatal. Nach Auffassung von Hooker (1944) und Abdel-Raouf (1960) wird diese postnatale Leydigzellpopulation erst um den Zeitpunkt der Pubertät gebildet. In der inaktiven Zeit zwischen Geburt und präpuberaler Anbildung mit Beginn in der 20. Woche liegen nach der Auffassung dieser beiden Autoren lediglich Mesenchymzellen im Interstitium. Diese sollen sich anschließend entweder zu Leydigzellen oder zu ortsständigen Bindegewebszellen differenzieren. Hierbei sei die Transformierung zu Fibroblasten mit 3 1/2 Monaten abgeschlossen, während die Differenzierung zu Leydigzellen 5 bis 6 Monate dauere. Im Gegensatz zu der Auffassung von Hooker (1944) und Abdel-Raouf (1960) konnten Bascom (1923) und Fosslund et al. (1961) bereits 1 bis 2 Wochen nach der Geburt lichtmikroskopisch eindeutig erkennbare Leydigzellen beobachten. Hay et al. (1961) hielten vereinzelt oder in Gruppen liegende sudanpositive Zellen im Hoden 4 Wochen alter Kälber ebenfalls für Leydigzellen.

Diese positiven lichtmikroskopischen Befunde werden neuerdings durch Sinowatz et al. (1983) bestätigt, welche elektronenmikroskopisch in der 16. Woche charakteristische Leydigzellen mit einem fortgeschrittenen Differenzierungsgrad beobachten konnten.

In neuerer Zeit haben neben den Leydigzellen auch andere intertubuläre Komponenten im Hoden des Rindes größere Aufmerksamkeit erfahren, da offensichtlich wichtige Teilfunktionen an sie ge-

bunden sind. Die Light Intercalated Cell (LIC) (Wrobel et al., 1981), eine spezialisierte Form aus der monozytären Entwicklungsreihe, ist topographisch eng mit den Leydigzellen assoziiert und dürfte für den intratestikulären Steroidhaushalt von Bedeutung sein. Besonders durchlässige Venulen und Kapillaren reichern die extrazelluläre Matrix mit Steroidcarrierproteinen an. Lymphozyten können sich im intertubulären Gewebe zu Plasmazellen differenzieren (Wrobel et al., 1981). Indizien mehrten sich, daß im postpuberalen Hoden nicht nur die Leydigzellen mit ihrem Testosteron die Hodentubuli beeinflussen, sondern daß auch die Sertolizellen der Tubuli als Glieder einer kurzen Rückkopplungsschleife ihrerseits steuernd in die Tätigkeit der Zwischenzellen eingreifen. Dies unterstreicht, daß im intertubulären Bereich die verschiedenen Gewebekomponenten stets im topographischen Zusammenhang zu sehen sind. Über die postnatale Ontogenese der intertubulären Topographie gibt es bisher keine Untersuchungen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, die Entwicklung der einzelnen intertubulären Komponenten von der 4. Woche bis zur Geschlechtsreife im Zusammenhang zu verfolgen. Besonderes Augenmerk wird darauf gerichtet, ob regionale Unterschiede in der Ontogenese des Hodens zu verzeichnen sind.

2. Material und Methode

2.1 Versuchstiere

Zur Untersuchung kamen 59 Hoden von 31 Rindern mit bekanntem Lebendgewicht aus den Beständen des Instituts für Tierzucht und Tierverhalten in Mariensee. Das Alter betrug zum Zeitpunkt der Materialentnahme 4, 8, 16, 20, 25, 30, 40 und 52 Wochen (Tabelle 1). Die Bluttestosteronwerte dieser Tiere zum Zeitpunkt der Schlachtung wurden mittels RIA bestimmt.

Die Hoden von 2 geschlechtsreifen Tieren der Rasse deutsches Fleckvieh mit dem Zahnalter von 1 1/2 Jahren wurden am Schlachthof von Regensburg entnommen.

2.2 Aufbereitung des Materials

Die Hoden wurden unmittelbar nach der Schlachtung gewonnen und von ihren Hüllen befreit. Anschließend wurden Längs- und Querdurchmesser sowie das Gewicht ermittelt. Das Hodenvolumen wurde aus den Längs-(a) und Querdurchmessern (b) des Organs nach der Formel

$$V = (1/6) \pi a b^2$$

rechnerisch ermittelt. Da das spezifische Gewicht vom Hodengewebe 1,038 (Swierstra, 1966) beträgt, wurden Volumen und Masse gleichgesetzt (Tabelle 1).

lfd. Nr.	Alter (Wo.)	Körper- gewicht (kg)	Hodenvolumen li re (cm ³)		Anteil von Tubulus- Interst. %		Tubulus- durchm. (µm)
1	4	45	6,4	5,4	46,0	54,0	41,6
2	4	45	7,0	3,3	51,5	48,5	45,5
3	4	53	3,6	3,0	--	--	--
4	8	69	7,3	7,5	--	--	--
5	8	71	4,1	5,9	--	--	--
6	8	89	11,7	11,6	53,2	46,8	62,4
7	8	94	--	16,4	59,7	40,3	54,7
8	16	100	28,8	21,6	56,7	43,3	71,5
9	16	110	16,3	17,3	--	--	--
10	16	122	20,7	24,5	56,1	43,9	70,9
11	16	128	22,2	36,5	58,3	41,7	77,9
12	16	132	27,2	36,9	62,5	37,5	85,6
13	20	129	20,7	23,0	--	--	--
14	20	149	46,8	43,0	66,0	34,0	108,2
15	20	166	44,2	48,2	72,2	27,8	110,4
16	20	191	47,4	59,7	71,5	28,5	128,3
17	25	175	32,2	38,7	--	--	--
18	30	237	60,5	45,5	72,5	27,5	131,8
19	30	238	89,7	99,5	--	--	--
20	30	243	142,6	121,7	81,9	18,1	170,0
21	30	258	155,2	115,6	82,0	18,0	159,2
22	40	265	166,2	127,0	81,7	18,3	175,9
23	40	282	163,3	154,4	79,0	21,0	182,9
24	40	302	167,4	152,9	76,1	23,9	176,7
25	40	304	212,3	221,4	82,4	17,6	190,6
26	40	312	164,7	183,2	--	--	--
27	52	374	272,1	187,1	80,3	19,7	201,7
28	52	386	233,6	235,6	81,1	18,9	191,4
29	52	386	237,6	238,9	75,4	24,6	196,7
30	78	--	224,3		83,4	16,6	212,2
31	78	--	284,3		84,3	15,7	220,4

In Tabelle 1 sind das Lebendgewicht, die errechneten Hodenvolumina, die morphometrisch ermittelten Prozentanteile von Interstitium, Tubuli sowie der Tubulusdurchmesser aufgeführt. Der prozentuale Anteil von Tubuli und Interstitium stellen die Mittelwerte aus den Werten der 3 Entnahmestellen dar.

Für die morphologischen Untersuchungen wurden die Hoden perfusionsfixiert. Hierzu wurde in den parallel zum Nebenhodenkörper verlaufenden gestreckten intratunikalen Abschnitt der A. testicularis eine Kanüle eingebunden (Abb. 1). Über diese wurde unter mäßigem Druck zuerst eine Spülflüssigkeit (Zusammensetzung bei Wrobel et al., 1978) injiziert. Die anschließende Fixation erfolgte bei kleinen Hoden (bis 30. Woche) per Hand, bei den größeren mittels der transportablen Perfusioneinrichtung von Scheubeck und Wrobel (1984).

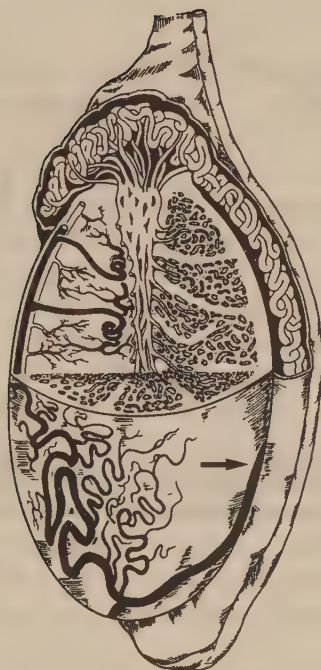


Abb. 1: Schematischer Bau des Rinderhodens. Der Pfeil markiert die Injektionsstelle für die Perfusionsfixation (Zeichnung von A. Abou Elmagd, Regensburg)

2.2.1 Präparation für die lichtmikroskopische Untersuchung.

Für die lichtmikroskopische Untersuchung wurden jeweils die linken Hoden mit Bouin'scher Lösung perfusionsfixiert. Aus 0,5-1 cm dicken Hodenquerschnittscheiben wurden retenah, zentral und subtunikal Parenchymbezirke geeigneter Größe entnommen (Abb. 2) und in Paraplast eingebettet. 5 bis 7 μ m dicke Gewebsschnitte wurden mit der Trichromfärbung nach Masson-Goldner (mod. nach Jerusalem, 1963) tingiert.

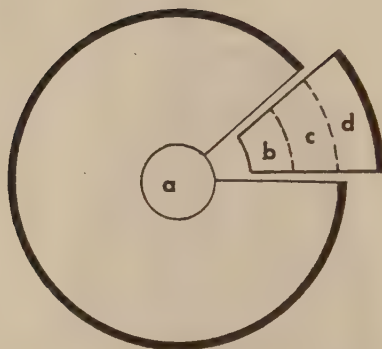


Abb.2: Schema zur Anfertigung der Hodenpräparate. An dem Hodenquerschnitt sind das Mediastinum testis (A) und die 3 Entnahmestellen des Hodenparenchyms retenah (B), zentral (C) und subtunikal (D) eingezeichnet.

2.2.2 Präparation für die elektronenmikroskopische Untersuchung

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wurden jeweils die rechten Hoden jedes Tieres mit den Gemischen I und II von Forssmann et al. (1977) perfusionsfixiert. Gewebestücke von 1mm Kantenlänge aus den in Abb. 2 angegebenen Entnahmestellen B, C und D wurden mit 1%igem OsO_4 eine Stunde lang nachfixiert und in ERL nach Spurr (1969) eingebettet. Semidünnschnitte wurden nach Richardson mit Methylenblau-Azur II gefärbt. Ultradünnschnitte wurden auf Kupfernetze aufgezogen, mit Uranylacetat und Bleicitrat nach Reynolds (1963) kontrastiert und mit einem Zeiss EM 10 A elektronenmikroskopisch ausgewertet.

2.2.3 Morphometrische Ermittlung von Tubulusanteil, Interstitium und Tubulusdurchmesser

Diese Daten wurden mit Hilfe eines Morphomaten (Firma Zeiss) an Paraffinschnitten ermittelt. An jeweils 10 Schnitten pro Entnahmestelle wurde insgesamt ein Areal von ca. 9 mm^2 ausgemessen. Zur genaueren Identifizierung der einzelnen Strukturen wurden die Präparate bei unterschiedlicher Vergrößerung ausgemessen. Es wurden aus der 4. und 8. Woche mit einem 40er Objektiv insgesamt 160 Meßfelder, aus der 16., 20. und 30. Woche mit einem 25er Objektiv insgesamt 60 Meßfelder und aus der 40., 52. und 78. Woche mit einem 10er Objektiv insgesamt 10 Meßfelder ausgewertet. Bei diesen Messungen wurde die Basallamina als Bestandteil des Tubulus gerechnet. Peritubuläre Zellen, ungeformte Matrix, Fasern, Gefäße und die verschiedenen interstitiellen Zellen bilden bei diesem Meßvorgang den intertubulären Bereich.

Der Gefäßanteil des Interstitiums wurde an den Paraffinschnitten mit Hilfe eines Integrationsokulars ermittelt. Unter Benutzung eines 25er Objektivs wurden pro Schnitt 6 Meßfelder zu je $0,140 \text{ mm}^2$, die jeweils in 900 Trefferpunkte unterteilt waren, ausgezählt. In der 4. und 8. Woche lassen die zumeist dünnwandigen

gen Gefäße keine sichere Differenzierung in Blut- und Lymphgefäße zu, so daß bei Präparaten dieser Altersstufe sämtliche Gefäße in einer Rubrik zusammengefaßt wurden. In den Präparaten ab der 16. Woche wurden Kapillaren, Blut- und Lymphgefäße gesondert ermittelt. Zu den Gefäßen wurden das Lumen und die gesamte Wandung einschließlich der Adventitia gerechnet.

Die quantitative Differenzierung der im intertubulären Areal gelegenen Zellen (Bindegewebszellen, Leydigzellen, peritubuläre Zellen, mononukleäre Zellen) geschah an Semidünnschnitten. An jeder der Entnahmestellen B, C, und D jedes Tieres wurden 40 Meßfelder zu $0,0121 \text{ mm}^2$ mit Hilfe eines 25er Objektivs ausgewertet. In jedem Feld wurde die Anzahl der einzelnen interstitiellen Zellen ausgezählt, wobei nur solche Zellen, deren Kerne angeschnitten waren, Berücksichtigung fanden.

2.2.4 Statistische Auswertung *

Zur Abklärung der Frage, ob in den 3 Entnahmestellen eines Hodens Tubuli, gesamtes intertubuläres Areal und Gefäßanteile gleichartig verteilt sind, oder ob regionale Unterschiede vorkommen, wurden die Meßwerte aus den 3 Regionen mit einem linearen Modell untersucht. Man setzt für jeden Meßwert das folgende Modell an.

$$Y = \mu + \gamma_i + \alpha x_i + \beta_j + \varepsilon$$

Dies bedeutet den Meßwert des i -ten Tieres im Alter x_i an der Entnahmestelle j . Dabei stellen μ das Gesamtmittel, γ_i den individuellen Einfluß des Tieres und β_j den Einfluß der Entnahmestelle dar. Sie sind feste unbekannte Parameter mit den Nebenbedingungen $\gamma_1 + \dots + \gamma_{21} = 0$ und $\beta_B + \beta_C + \beta_D = 0$. ε ist eine Zufallsvariable. Die ε 's für alle Meßwerte werden als unabhängig und normalverteilt mit Mittelwert Null und Varianz σ^2 vorausgesetzt. Die Variabilität der Beobachtungswerte wird durch den Alterseffekt (αx), den Regionaleffekt (β_j), den Tiereffekt (γ_i) und den Versuchsfehler ε hervorgerufen.

Es wurde ein F-Test mit dem Signifikanzniveau von 5% zum Prüfen der Nullhypothese [$(H_0): \beta_B = \beta_C = \beta_D$] durchgeführt, daß die 3 Entnahmestellen sich in der prozentualen Zusammensetzung von Tubulus, Gesamtinterstitium sowie von Gefäßanteil nicht unterscheiden. Die Nullhypothese wird verworfen, wenn die Testschranke größer ist als die zum Signifikanz-Niveau von 5% gehörende Testgröße. Dann wird die Alternativhypothese akzeptiert.

* An dieser Stelle sei Frau Dr. Renate Beinhauer vom Lehrstuhl für Mathematik der Universität Regensburg für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung herzlich gedankt.

Die Unterschiede zwischen je zwei Entnahmestellen wurden mit Scheffe'schen Konfidenzintervallen untersucht.

Die Beziehung zwischen Hodenvolumen oder Körpergewicht als x-Variable zu Interstitium als y-Variable wurde mit dem Modell II der linearen Regression (siehe z. B. Rasch D., 1983) ermittelt. Beide Variablen sind Zufallsgrößen. Die Hypothese der Unabhängigkeit von x und y wurde an Hand des empirischen Korrelationskoeffizienten mit 5% Irrtumswahrscheinlichkeit zweiseitig getestet (Testschranke aus der Tabelle von Van der Waerden, 1957).

3. Befunde

3.1 Körpergewicht und Hodenvolumen

Im Laufe der postnatalen Entwicklung kommt es, wie allgemein bekannt, zu einer Zunahme des Körpergewichts und einer Vergrößerung des Hodenvolumens (Tabelle 1). Diese Veränderungen laufen nicht konform. Während beim Körpergewicht unserer unter gleichen Bedingungen gehaltenen Tiere eine annähernd lineare Zunahme von der 4. bis zur 52. Woche ersichtlich ist, nimmt das Hodenvolumen am Anfang der Entwicklung (bis zur 20. Woche) deutlich langsamer zu.

3.2 Lichtmikroskopische Befunde

3.2.1. Regionale Unterschiede in der Hodenmorphologie (Abb. 3)

Die Mittelwerte für die 3 verschiedenen Entnahmestellen jedes einzelnen Hodens unterscheiden sich geringfügig voneinander. Die retenahen und zentralen Hodengewebsareale zeigen in der Regel einen höheren Anteil an intertubulärem Bereich als die subtunikalen. Die in Tabelle 2 aufgeführten Werte werden ohne Miteinbeziehung der Werte aus der 78. Woche auf Signifikanz hin untersucht. Zwar sind die regionalen Unterschiede in der Verteilung von Tubuli und intertubulärem Bereich auch nach der 52. Woche noch meßbar, vermindern sich aber so stark, daß bei den Werten aus der 78. Lebenswoche die Annahme einer linearen Abhängigkeit vom Alter nicht mehr gerechtfertigt ist. Diese Werte wurden daher beim Test nicht benutzt. Aufgrund statistischer Untersuchungen mit dem anfangs eingeführten linearen Modell erweisen sich die Abweichungen bei den Altersstufen zwischen 4 und 52 Wochen für die retenahen und zentralen Entnahmestellen gegenüber dem subtunikalen Areal als signifikant (Tabelle 3). Zwischen den retenahen (B) und zentralen (C) Regionen treten keine statistisch haltbaren Differenzen auf.

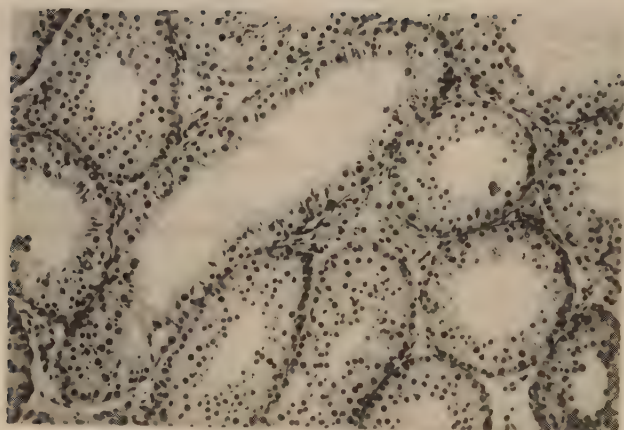
Tier- nr.	Alter (Wo.)	Entnahmestellen		
		B	C	D
1	4	52,2	49,9	43,3
2	4	57,1	52,6	52,4
6	8	49,0	49,6	41,9
7	8	40,3	40,9	39,7
8	16	45,9	46,8	37,1
10	16	42,6	44,4	44,7
11	16	42,2	42,5	40,5
12	16	33,8	40,5	38,2
14	20	35,0	37,1	30,1
15	20	32,7	29,6	21,1
16	20	--	37,6	19,5
18	30	32,2	29,5	20,9
20	30	22,9	20,2	11,1
21	30	19,6	21,6	12,8
22	40	19,1	20,4	15,3
23	40	26,2	20,7	16,1
24	40	27,7	21,5	22,5
25	40	18,6	17,4	16,9
27	52	20,6	17,8	20,6
28	52	19,5	22,2	15,0
29	52	30,7	28,0	15,2
30	78	20,3	15,6	14,0
31	78	19,2	16,1	11,7

Tabelle 2 zeigt den prozentualen Anteil des intertubulären Areals in den drei Entnahmestellen.

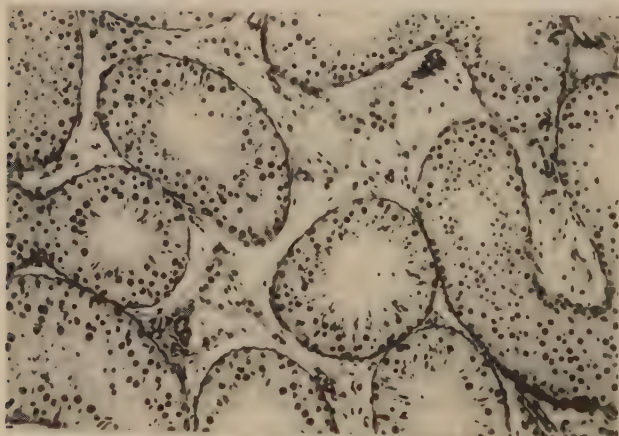
Diese beiden Bereiche können daher zusammengefaßt werden. Der Anteil von Interstitium und Tubuli innerhalb eines Hodens kann während der Ontogenese nicht als gleichmäßig verteilt angesehen werden. Der Restfehler wurde auf Normalverteilung geprüft und ergibt eine gute Anpassung. Es wurden simultane Konfidenzintervalle nach Scheffe berechnet für die Differenzen $\beta_B - \beta_C$, $\beta_C - \beta_D$, $\beta_B - \beta_D$. Die Intervalle für die beiden letzten Differenzen liegen ganz im positiven Bereich, während das Intervall für die erste Differenz die Null enthält. Man kann also die Entnahmestellen B und C nicht signifikant unterscheiden, wohl unterscheidet sich D von B und C.

Ursache	FG	QS	MQS
volles Modell	23	69232.89581	3010.12590
Hypothese	2	454.66081	227.3304
reduziertes Modell	21	68778.23500	3275.15405
Restfehler	39	433.18419	11.10729
total	62	69666.08000	

Tabelle 3: Varianzanalysetabelle für die Verteilung des intertubulären Bereiches in den verschiedenen Regionen.



a



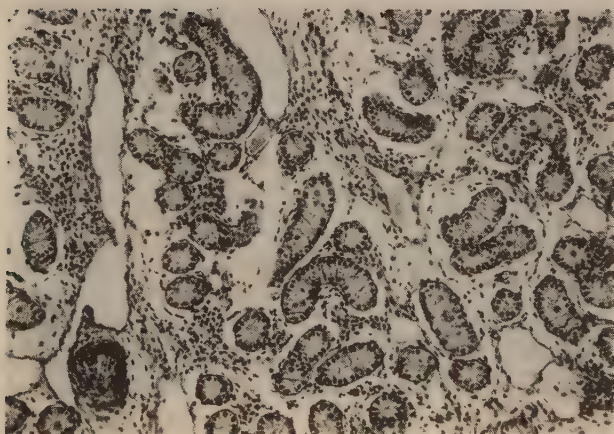
b

Abb. 3: Die Ausschnitte aus dem Hoden eines Tieres der 30. Woche zeigen die regionalen Unterschiede in der Verteilung von Tubuli seminiferi und intertubulärem Bereich. Im subtunikalen Areal (3a) liegen die Tubuli dichter beieinander, im retenahen Bezirk (3b) ist der intertubuläre Bereich stärker entwickelt. Die Tubuli weisen zusätzlich noch einen unterschiedlichen Entwicklungszustand in den beiden Entnahmestellen auf. Masson-Goldner, x 140

3.2.2 Quantitatives Verhalten des intertubulären Areals in der Ontogenese (Abb. 4a - 4g)

Mittelt man die intertubulären Anteile der 3 verschiedenen Entnahmestellen, so nimmt bei 4 Wochen alten Tieren das intertubuläre Gebiet ca. 50% ein. Im Laufe der Entwicklung reduziert sich dieser Anteil, wobei diese Regression keinen kontinuierlichen Verlauf zeigt. Bis zur 30. Woche hat sich der intertubuläre Bereich um mehr als die Hälfte auf ca. 20% verringert. Zwischen der 30. und 52. Woche schwankt der Interstitiumanteil um 20%. Ab der 52. Woche verringert er sich nochmal um einen geringeren Betrag und erreicht in der 78. Woche einen Anteil von ca. 15%.

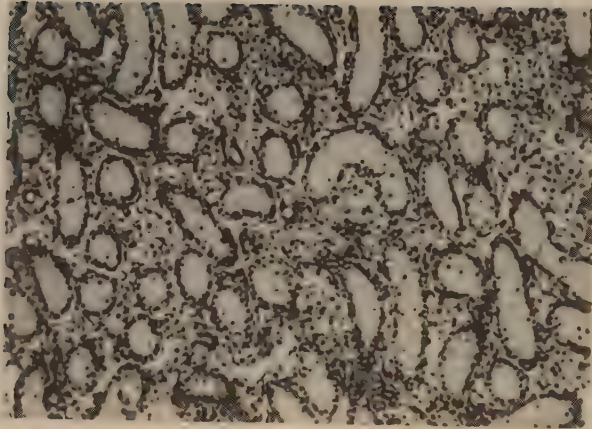
Ausschlaggebend für die relative Regression des intertubulären Bereichs ist vor allem das Wachstumsverhalten der Tubuli seminiferi, die bis zur 16. Woche solide sind und dann ihre Lumina ausbilden.



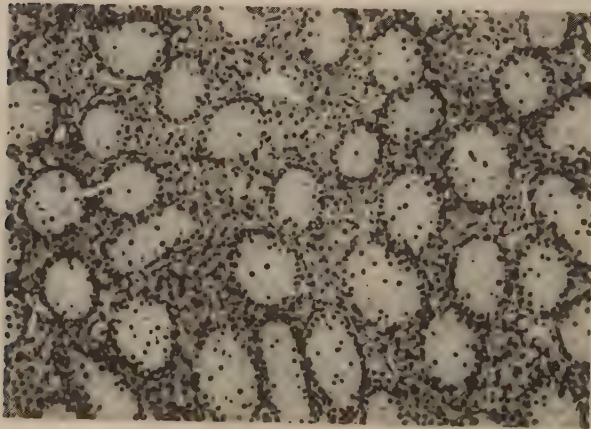
a

4a - 4f Masson-Goldner, 4g Gomori-Halmi-Davenport, x 140.
Anteil des intertubulären Areals am Hodenparenchym während der postnatalen Ontogenese.

Abb. 4a: In der 4. Woche sind die beiden Hodenkomponenten Tubuli seminiferi und intertubulärer Bereich etwa gleichmäßig verteilt.

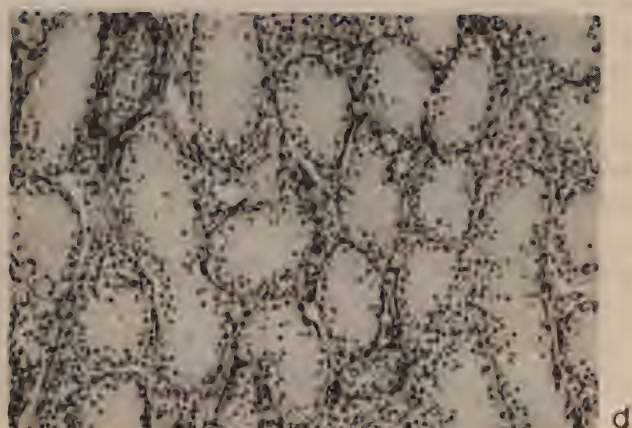


b

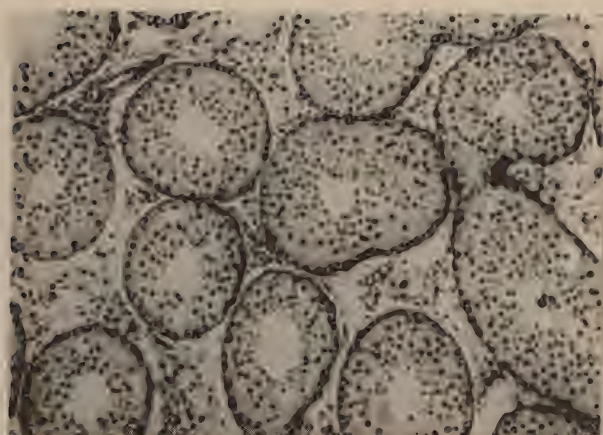


c

Abb. 4b und 4c: Der intertubuläre Bereich wird in der 8. (4b) und 16. Woche (4c) zunehmend mit Zellen angefüllt. Der Tubulusdurchmesser vergrößert sich gleichfalls.

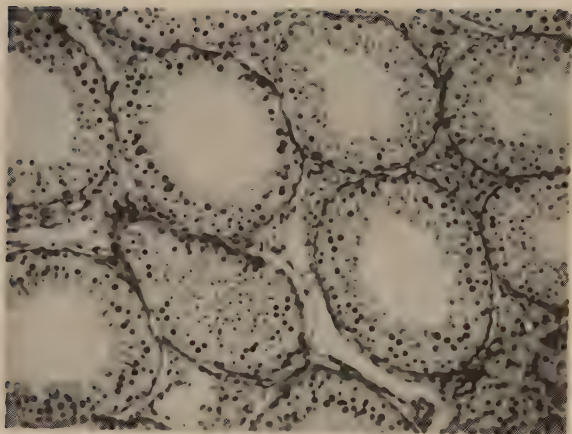


d

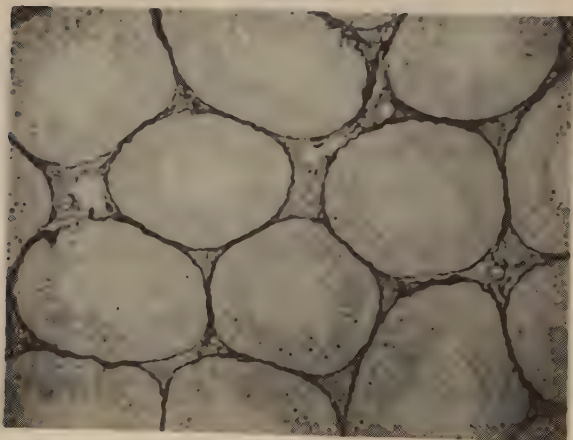


e

Abb. 4d, 4e: Durch protrahiert ablaufende intratubuläre Veränderungen (Heraufwachsen des Keimepithels und Lumenbildung) in der 20. (4d) und 30. Woche (4e) wird das intertubuläre Areal reduziert.



f



g

Abb. 4f, 4g: In der 52. Woche (4f) wird ein ähnliches Verteilungsmuster wie bei adulten Tieren (4g) vorgefunden.

Vergleicht man Körpergewicht und Tubulusanteil in den Altersstufen, so gibt es in der Ontogenese eine parallel verlaufende Zunahme beider Eigenschaften. Zwischen Körpergewicht und der Gesamtmasse des intertubulären Hodenareals besteht demgemäß ein starker gegenläufiger Zusammenhang. Mit zunehmendem Körpergewicht vermindert sich der intertubuläre Anteil in statistisch signifikanter Weise ($r=-0,89$). Dieser Wert übersteigt die Schranken für die Korrelationskoeffizienten auf dem 5% Niveau mit 19 Freiheitsgraden ($r=\pm 0,433$).

Dieser Test ist nicht unabhängig vom Test für die Regionalunterschiede. Die hierfür notwendigen Werte wurden aus dem gleichen Tiermaterial und den vorangegangenen morphometrischen Untersuchungen übernommen; der Test ist daher nur beschränkt gültig. Hodenvolumen und intertubuläres Areal in % sind 2 abhängige Variable mit $r=-0,86$ (Testschranke $r=\pm 0,423$).

3.2.3 Verteilung von Zellen und Grundsubstanz im intertubulären Areal

Das Verhältnis von Zellen und Grundsubstanz bleibt während der postnatalen Ontogenese nicht konstant.

In den Präparaten der 4. und 8. Woche gibt es neben Arealen mit Zellaggregationen große zellarme und matrixreiche Bezirke, die besonders in der 4. Woche von großlumigen und dünnwandigen Gefäßen durchzogen sind. In den retenahen und zentralen Entnahmestellen dominieren insgesamt die zellarmen, in der subtunikalen Entnahmestelle die zellreichen intertubulären Areale (Abb. 5a, 5b).

In der 16. und 20. Woche sind die intertubulären Räume fast gleichmäßig mit Zellen ausgefüllt. Dieser Tatbestand ist bedingt durch individuelle Zellvergrößerung, durch quantitative Zellvermehrung und durch prozentuale Zunahme des tubulären Anteils am Gesamthodengewebe (Abb. 4c, 4d).

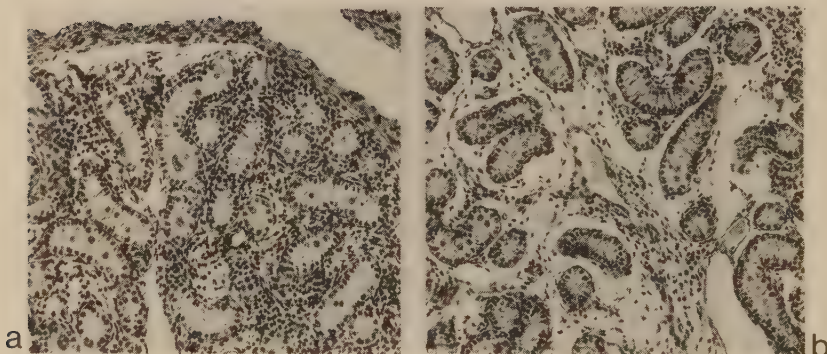


Abb. 5a, 5b : In der 4. Woche liegen die Tubuli seminiferi subtunikal (5a) dicht zusammengedrängt. Der intertubuläre Bezirk ist mit Zellen aufgefüllt. In den beiden anderen Entnahmestellen (5b) wird das intertubuläre Areal durch großlumige dünnwandige Gefäße geweitet. Masson-Goldner, x 140

Die homogene zellreiche Textur des intertubulären Bereiches ist nur eine vorübergehende Erscheinung. Ab der 25. Woche ist die intertubuläre Topographie wieder inhomogen. Neben Bezirken mit dichten Leydigzell-Clustern sind andere zellarme und matrixreiche Areale anzutreffen, in welchen als zelluläre Komponenten Bindegewebszellen und mononukleäre Zellen besonders ins Auge fallen.

3.2.4 Quantitative Erfassung der einzelnen intertubulären Zellarten

An SD-Schnitten wurde der zahlenmäßige Anteil von 4 intertubulären Zelltypen in den 3 verschiedenen Entnahmestellen aller Altersstufen erfaßt (Tabelle 4). Ausgezählt wurden mesenchymähnliche bzw. ortsständige Bindegewebszellen, mononukleäre Zellen, Leydigzellen und typische differenzierte peritubuläre Zellen. Da in der 4. und 8. Woche keine eindeutige Abgrenzung zwischen den peritubulär angeordneten Zellen und den intertubulär liegenden mesenchymähnlichen Zellen möglich ist, wurden alle undifferenzierten ortsständigen Zellen der 4. und 8. Woche in der Rubrik Bindegewebszellen zusammengefaßt.

Alter (Wo.)	peritub. Zellen	Bindegewebszellen	Leydigzellen	mononukl. Zellen
4	---	71,2 ± 1,6	8,5 ± 4,4	20,3 ± 9,7
8	---	59,8 ± 2,4	19,4 ± 3,9	20,8 ± 4,9
16	31,2 ± 3,2	21,8 ± 3,8	19,6 ± 5,1	27,4 ± 4,5
20	26,8 ± 8,3	16,5 ± 5,3	32,4 ± 5,4	24,3 ± 4,7
30	27,6 ± 9,8	20,4 ± 9,8	25,8 ± 6,7	26,2 ± 2,6
40	21,3 ± 6,8	18,6 ± 6,7	33,0 ± 4,4	27,1 ± 5,2
52	21,3 ± 7,1	12,6 ± 3,1	35,7 ± 6,8	30,4 ± 8,9

Tabelle 4: Mittelwert und Standardabweichung der verschiedenen intertubulären Zellarten in Prozent pro Altersstufe

In der 4. und 8. Woche differenzieren sich uncharakterisierbare mesenchymähnliche Zellen der Rubrik "Bindegewebszellen" laufend zu Leydigzellen. Gleichzeitig wird der Pool mesenchymähnlicher Zellen kontinuierlich durch Zellteilungen ergänzt. In der 4. und 8. Woche lassen sich deshalb Mitosen relativ häufig beobachten. Diese werden sowohl in peritubulärer als auch in zentraler intertubulärer Position angetroffen. Die Rubrik "Bindegewebszellen" repräsentiert somit in der 4. und 8. Woche keine konstante Zellpopulation sondern befindet sich in einem Fließgleichgewicht von Differenzierung und Neubildung.

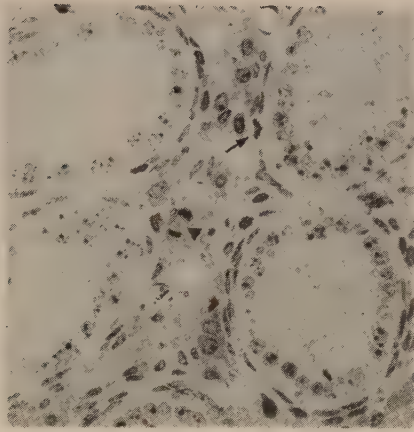


Abb. 6: Mitosen einer peritubulär gelegenen undifferenzierten Zelle (Pfeil) sowie einer Leydigzelle (Pfeilkopf) in der 8. Lebenswoche. Semidünnschnitt, Richardson, x 350

Postnatale Leydigzellen differenzieren sich überwiegend aus Mesenchymzellen. Darüber hinaus kommen im präpuberalen Hoden als weitere Quelle für neue Leydigzellen in sehr geringem Ausmaß auch Mitosen von bereits deutlich differenzierten Leydigzellen in Frage (Abb.6). Leydigzellen stellen mit 8% in der 4. Woche die kleinste Zellgruppe, nehmen danach deutlich zu, und sind ab der 20. Woche mit ca. 30% zahlenmäßig die größte Zellgruppe im intertubulären Areal des Hodens. In der 16. und 20. Woche, wenn der nichttubuläre Bereich fast vollständig von Zellen ausgefüllt ist, stellen die Leydigzellen mit ca. 20-30% einen beträchtlichen Anteil. Zu dieser Zeit sind die Leydigzellen sowohl als morphologisch intakte als auch in degenerierender Form anzutreffen (Abb.7). Die Zeit des Nebeneinanders einer Neudifferenzierung von Leydigzellen aus mesenchymähnlichen Vorläufern und einer Degeneration großer Teile der erst kürzlich gebildeten Leydigzellpopulation dauert bis zur 30. Woche. Lichtmikroskopisch lassen sich die einleitenden Stadien der Leydigzelldegeneration nicht sicher erkennen. Deshalb sind bei der quantitativen Ermittlung alle Zustandsbilder von Leydigzellen zusammengefaßt aufgeführt.

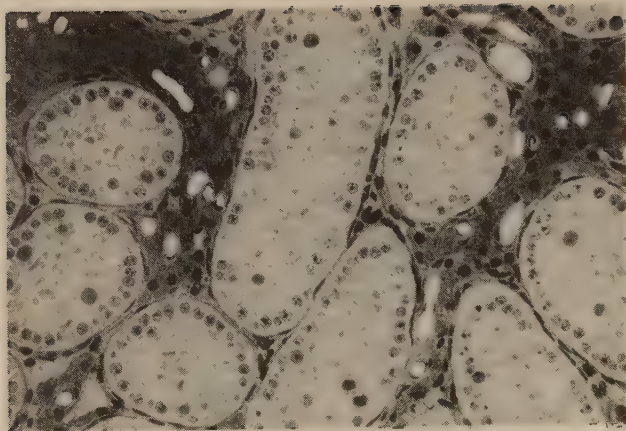


Abb. 7: In dem mit Zellen angefüllten intertubulären Raum können in der 16. Woche größere Areale von degenerierenden Leydigzellen, kenntlich an ihren dunklen, pyknotischen Kernen, angetroffen werden. Semidünnschnitt, Richardson, x 350

Die direkt der Lamina propria anliegenden undifferenzierten Zellen, die in der 4. und 8. Woche in die Rubrik "Bindegewebszellen" eingeordnet wurden, entwickeln sich ab der 16. Woche in Richtung Myofibroblasten und bilden dann eine geschlossene Zellschicht um die Tubulismembran. Sie haben mit Beginn dieser Differenzierung offensichtlich die Fähigkeit, sich zu teilen verloren und stehen somit auch als Lieferanten für neue Leydigzellen nicht mehr zur Verfügung. Ab diesem Zeitpunkt reduziert sich der Anteil der "Bindegewebszellen" unserer quantitativen Auswertung von ca. 70% in der 4. Woche auf ca. 20% und schwankt in der Folgezeit (20.-52. Woche) zwischen 12% und 20%. "Bindegewebszellen" sind nun ausschließlich Fibrozyten und Fibroblasten. Sie sind vorwiegend in der Nähe von Blutgefäßen und in der Peripherie der Membrana propria jenseits der Lage der kontraktilen peritubulären Zellen anzutreffen.

Mononukleäre Zellen sind im Hoden des Rindes aller Altersstufen vorhanden und im postpuberalen Hoden neben den Leydigzellen die zweitgrößte Zellpopulation. Sie sind zahlenmäßig eine annähernd

konstante Zellgruppe, die auch in den Altersstufen (16. und 20. Woche), wo große Leydigzellareale zugrunde gehen, keine zahlenmäßige Zunahme erkennen läßt. Allerdings ist die Gruppe der mononukleären Zellen in sich nicht homogen. Hierzu zählen Lymphozyten, Plasmazellen, Monozyten sowie deren Differenzierungsstufen zu Makrophagen und Light Intercalated Cells (LIC).

3.2.5 Quantitativer Anteil von Blut- und Lymphgefäßen

(Tabelle 6)

Die Ergebnisse über die Verteilung der Gefäße wurde, wie die vorangegangenen Untersuchungen, am selben Material gewonnen. Die statistische Auswertung hat hier nur beschränkt Gültigkeit, weil der Test nicht unabhängig von den vorherigen ist und die Restfehlerprüfung eine schlechte Anpassung an die Normalverteilung aufweist. Er ist dennoch wertvoll, weil er den ersten Test bestätigt.

Die Gefäße zeigen Unterschiede hinsichtlich regionaler und altersabhängiger Verteilung. Bedingt durch das häufige Vorkommen dünnwandiger großlumiger Gefäße ist ihr Gesamtanteil mit ca. 14% in der 4. Woche in den retenahen und zentralen Bereichen sehr hoch. Im Gegensatz zu diesen Regionen wird das subtunikale Hodenzwischengewebe von weniger Gefäßen, ca. 2%, durchzogen. In der 8. Woche führen Zunahme und Vergrößerung der intertubulären Zellen bei gleichzeitiger Reduktion des intertubulären Areals zu einem relativen Schwund der Gefäßanteile in den retenahen und zentralen Regionen auf ca. 9% im morphometrierten Paraffinschnitt. Abweichend von den inneren Bezirken wird dieses Verhalten nicht im subtunikalen Bereich in der 8. Woche beobachtet.

Hier steigt der Gefäßanteil bis zur 16. Woche. Zeitlich verschoben findet die Gefäßreduktion in einem geringeren Ausmaß wie in den anderen Regionen in der 20. Woche statt. Bis zur 40. Woche bleibt der Gefäßanteil in den verschiedenen Regionen annähernd konstant, um ab diesem Zeitpunkt anzusteigen. Diese Zunahme erfolgt in den verschiedenen Bereichen nicht gleichzeitig. Retenah ist dieser Trend schon ab der 20. Woche zu konstatieren.

Im Hoden zeigen die retenahen und zentralen Entnahmestellen ein gleiches Gefäßmuster und unterscheiden sich vom subtunikalen Bereich. Diese Differenzen lassen sich mit dem linearen Modell statistisch sichern (Tabelle 5). Bei Freiheitsgraden von (2,62) erwiesen sich die Abweichungen auf der 0,5% Stufe mit einer Testgröße von $F = 5,3829$ bei einer Testschranke von 3,15 als signifikant.

Ursache	FG	QS	MQS
volles Modell	22	7256505.08640	329841.14029
Hypothese	2	539538.41974	269769.20987
reduziertes Modell	20	6716966.66667	335848.33333
Restfehler	37	824124.91360	22273.64631
total	59	8080630.00000	

Tabelle 5: Varianzanalysetabelle für die Verteilung der Gefäße in den verschiedenen Entnahmestellen.

Vor der 16. Woche sind die Gefäßwände sehr dünn, eine Identifizierung einzelner Gefäßtypen ist schwierig, ab der 16. Woche kann auch an Paraffinschnitten der Gefäßanteil weiter in Lymph- und Blutgefäße sowie Kapillaren aufgegliedert werden.

Aufgrund des ersten Testes können die retenahen (B) und zentralen (C) Bereiche zusammengefaßt werden. Differenzen treten hauptsächlich bei Blut- und Lymphgefäßen auf. Kapillaren dagegen zeigen im Untersuchungszeitraum keine Abweichungen in den verschiedenen Entnahmestellen. In der 16. Woche ist das Interstitium mit Zellen aufgefüllt und der Beobachter hat den Eindruck, daß in dieser Altersstufe vermehrt Kapillaren anzutreffen sind. Dies kann in der quantitativen Auswertung nicht bestätigt werden.

Blutgefäße, Arterien und Venen, durchziehen ab der 40. Woche mit einem größeren Anteil den inneren Bereich des Hodenzwischengewebes, während im subtunikalen Bereich der Anteil während der Organentwicklung annähernd konstant bleibt.

Der Anteil der Lymphgefäße steigt mit zunehmendem Alter in allen Entnahmestellen. Es treten regionale Unterschiede auf. Retenah nimmt der Lymphgefäßanteil kontinuierlich bis zur 52. Woche zu. Bei den übrigen Regionen steigt er, nach anfänglichen Schwankungen in den frühen Altersstufen, ab der 40. Woche schnell an.

In Tabelle 6 sind der Anteil der Gefäße am Hodengewebe und seine Zusammensetzung in Kapillaren, Blutgefäße und Lymphgefäße aufgeführt.

Tier-nr.	Entnahme-stelle	% Gefäße	% Kapil-laren	% Arterien Venen	% Lymph-gefäße
1	B	13,7	---	---	---
	C	14,5	---	---	---
	D	1,6	---	---	---
2	B	13,7	---	---	---
	C	14,9	---	---	---
	D	2,4	---	---	---
6	B	4,4	---	---	---
	C	6,5	---	---	---
	D	5,4	---	---	---
7	B	3,5	---	---	---
	C	3,9	---	---	---
	D	2,6	---	---	---
8	B	2,3	0,9	0,4	1,0
	C	5,2	1,6	0,8	2,8
	D	5,1	1,2	1,8	2,1
10	B	5,1	1,2	1,9	2,0
	C	4,0	1,1	1,2	1,7
	D	2,8	1,1	1,1	0,6
11	B	6,7	2,7	1,6	2,4
	C	8,9	2,4	2,3	4,2
	D	4,3	2,2	1,2	0,9
12	B	4,7	1,5	1,8	1,4
	C	4,1	2,3	0,6	1,2
	D	5,2	2,1	1,3	1,8
14	B	4,7	0,3	1,2	3,2
	C	3,2	0,4	0,3	2,5
	D	1,6	0,3	0,6	0,7
15	B	3,4	0,6	1,3	1,5
	C	3,0	1,1	0,7	1,2
	D	0,5	0,2	0,1	0,2
16	B	---	---	---	---
	C	3,3	0,3	1,3	1,7
	D	1,5	0,4	0,4	0,7
18	B	4,4	0,3	1,5	2,6
	C	3,4	0,3	0,6	2,5
	D	0,4	0,1	---	0,3

Fortsetzung der Tabelle 6

20	B	6,8	0,3	0,8	5,7
	C	6,7	0,3	1,4	5,0
	D	1,9	0,2	0,2	1,5
21	B	5,0	0,5	1,1	3,4
	C	3,6	0,3	1,3	2,0
	D	1,5	0,1	0,7	1,7
22	B	6,8	0,5	1,9	4,4
	C	4,3	0,3	0,8	3,2
	D	2,1	0,2	0,4	1,5
23	B	3,8	0,4	0,7	2,7
	C	2,4	0,2	1,0	1,2
	D	0,5	0,1	0,1	0,3
24	B	9,7	0,5	1,1	8,1
	C	3,8	0,4	1,8	1,6
	D	3,4	0,2	1,2	2,0
25	B	2,3	0,6	0,7	1,0
	C	2,6	0,4	0,5	1,7
	D	1,9	0,3	0,4	1,2
27	B	9,0	0,9	5,8	2,3
	C	15,1	0,8	6,5	7,8
	D	6,1	0,8	1,0	4,3
28	B	16,9	0,6	6,0	10,3
	C	12,2	0,7	6,1	5,4
	D	5,2	0,7	0,7	3,8
30	B	16,2	1,5	9,7	5,0
	C	14,3	0,9	5,1	8,3
	D	10,5	1,5	1,8	7,2
31	B	8,4	1,0	3,0	4,4
	C	13,3	0,6	4,4	8,3
	D	10,4	0,2	0,6	9,6

3.3. Elektronenmikroskopische Befunde

3.3.1 Ultrastruktur der mesenchymähnlichen Zellen und ortsständigen Bindegewebszellen (Abb. 8 und 9)

Die Mehrzahl der intertubulären Zellen in der 4. Woche sind die mesenchymähnlichen Zellen, die sich vor allem um die Tubuli seminiferi und in der Nachbarschaft von Blutgefäßen finden.

Diese Zellen besitzen einen großen ovalen oder spindelförmigen Zellkern. Ihn umgibt ein schmaler Zytoplasmasaum, der an den beiden Kernpolen verbreitert ist. Hier liegen die meisten Organellen. Ausläufer des Zelleibes erstrecken sich in die nähere Umgebung, können mit den Fortsätzen anderer mesenchymähnlicher Zellen in Kontakt treten, ohne Zellhaute auszubilden und so einen netzartigen Verband bilden.

Zellorganellen sind in geringer Anzahl vorhanden und haben einen geringen Differenzierungsgrad. Die kleinen runden und bisweilen ovalen Mitochondrien sind matrixreich und lassen kaum Cristae erkennen. Vereinzelt freie Ribosome liegen im Zytoplasma verstreut. An den Kernpolen und in den Zytoplasmafortsätzen trifft man schlanke kurze Profile von rauhem endoplasmatischem Retikulum. Obwohl ein Golgi-Apparat in diesen Zellen selten zu beobachten ist, werden viele unterschiedlich große Vesikel, zum Teil mit Inhalt angetroffen. Diese mesenchymähnlichen Zellen sind die Vorläufer einerseits von Grundsubstanz und Fasern bildenden Bindegewebszellen, ferner von Leydigzellen, wie kontinuierliche Differenzierungsreihen belegen, sowie von kontraktilen peritubulären Zellen. Infolgedessen nehmen im Laufe der weiteren Ontogenese die mesenchymähnlichen Zellen zahlenmäßig ab und sind von der 30. Woche an nur mehr ein seltener Befund. In jüngeren Ontogenesestadien lassen sich relativ häufig mitotische Teilungen dieses Zelltyps beobachten.

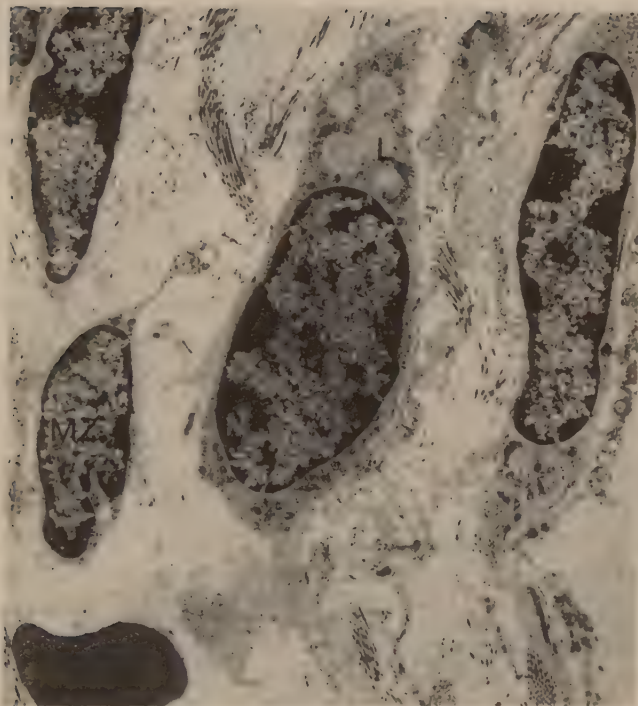


Abb. 8: Mesenchymähnliche Zellen (MZ) der 4. Woche besitzen ein hohes Teilungs- und Differenzierungspotential. Sie sind die Vorläufer von Leydigzellen (L = junge Leydigzelle), Myofibroblasten oder Bindegewebszellen. x 7300

Bei der Umwandlung mesenchymähnlicher Zellen zu Fibroblasten und Fibrozyten wird die gesamte Zelle verlängert. Profile des rauen endoplasmatischen Retikulum und Mitochondrien nehmen zu, die Zellfortsätze werden länger, und ein Golgi-Apparat wird regelmäßig angetroffen.

Die Entwicklung der mesenchymähnlichen Zellen zu Leydigzellen kündigt sich durch Abrundung von Zellkern und Zelleib an. Auch der typische Leydigzellnukleolus kann gelegentlich schon beobachtet werden. Das endoplasmatische Retikulum entfaltet sich und bildet schlanke Profile, die sowohl dem agranulären aber überwiegend noch dem granulären Typ angehören. Die Mitochondrien haben sich zahlenmäßig noch nicht nennenswert vermehrt, bevorzugen aber bereits einen der Zellpole. Gelegentlich sieht man einen Lipidtropfen.

Die Differenzierung mesenchymähnlicher Zellen zu peritubulären Zellen steht in engem Zusammenhang mit der Ontogenese der gesamten Lamina propria und wird deswegen dort abgehandelt.

Ortsständige Bindegewebszellen sind im Hoden geschlechtsreifer Bullen relativ selten. Sie können peripher von der Schicht der Myofibroblasten um die Tubuli, in der Nachbarschaft großer Blutgefäße und in den matrixreichen Regionen des Interstitiums angetroffen werden. Ihre Ultrastruktur zeigt keine Besonderheiten verglichen mit den Fibroblasten anderer Organe.

Der ovale Zellkern scheint an den beiden Kernpolen komprimiert und hat daher eine gewellte Außenkontur. Er ist von einem schmalen Zytoplasmabereich umgeben. Dünne unterschiedlich lange Fortsätze ragen in die Umgebung. Zusammentreffende Ausläufer verschiedener Bindegewebszellen bilden offensichtlich keine Zellkontakte aus. Die wenigen Organellen haben sich an den Kernpolen konzentriert. Mitochondrien besitzen eine dichte Matrix und wenig Cristae. Polyribosomen werden bis weit in die Fortsätze hinein angetroffen. Das raue ER formt kurze Stränge.

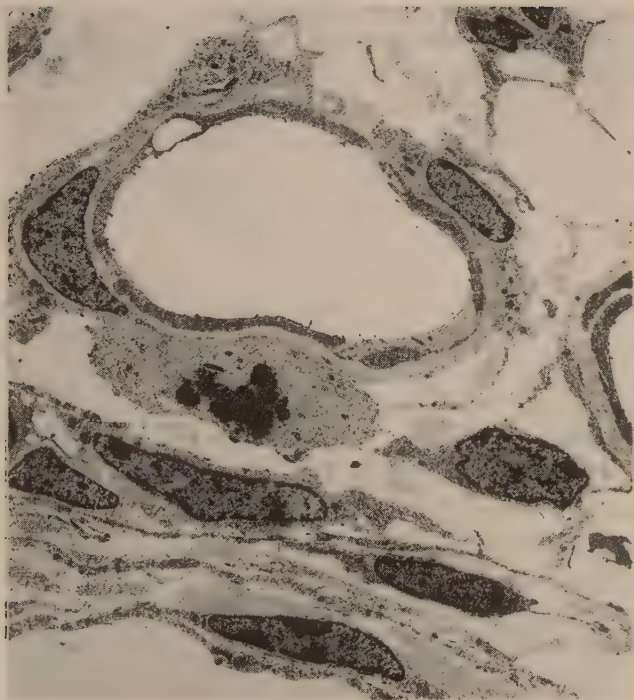


Abb. 9: In der 4. und 8. Lebenswoche werden Mitosen der mesenchymähnlichen Zellen häufig angetroffen. x 4000

3.3.2 Ultrastruktur der Leydigzellen

3.3.2.1. Adulte Leydigzellgeneration

(Abb. 10, 11 und 12)

Von der 25. Woche an tritt die adulte Form der Leydigzellen auf. Es handelt sich um eine polygonale Zelle mit einem annähernd runden Zellkern, dessen prominenter Nukleolus relativ häufig angeschnitten ist.

Der Zelleib ist größtenteils von der für das Rind typischen gemischten Erscheinungsform des endoplasmatischen Retikulums ausgefüllt. In einigen peripher gelegenen Regionen zeigt das endoplasmatische Retikulum ein fingerbeerenähnliches Profil und ist hier mit kurzen Strecken eines typischen rauhen endoplasmatischen Retikulums durchzogen. Zwischen dem endoplasmatischen Retikulum liegen plurivakuoläre Lipideinschlüsse unterschiedlicher Größe und Anzahl.

Die runden oder länglichen **Mitochondrien** konzentrieren sich hauptsächlich auf die Zellpole und zeigen eine deutliche Binnenstruktur mit Cristae und Tubuli. Viele Mitochondrien beinhalten Matrixgranula und kristalline Einlagerungen.

Häufig treten in Leydigzellen osmiophile **dense bodies** unterschiedlicher Größe, Form und Häufigkeit auf. Sie sind rund bis spindelförmig. Diese Bildungen sind auf Grund ihrer Dichte und der fehlenden Membran eindeutig von Lipidtropfen abzugrenzen.

Golgi-Felder werden in adulten Leydigzellen seltener beobachtet. Cluster bildende Leydigzellen können durch Gap junctions verbunden sein.

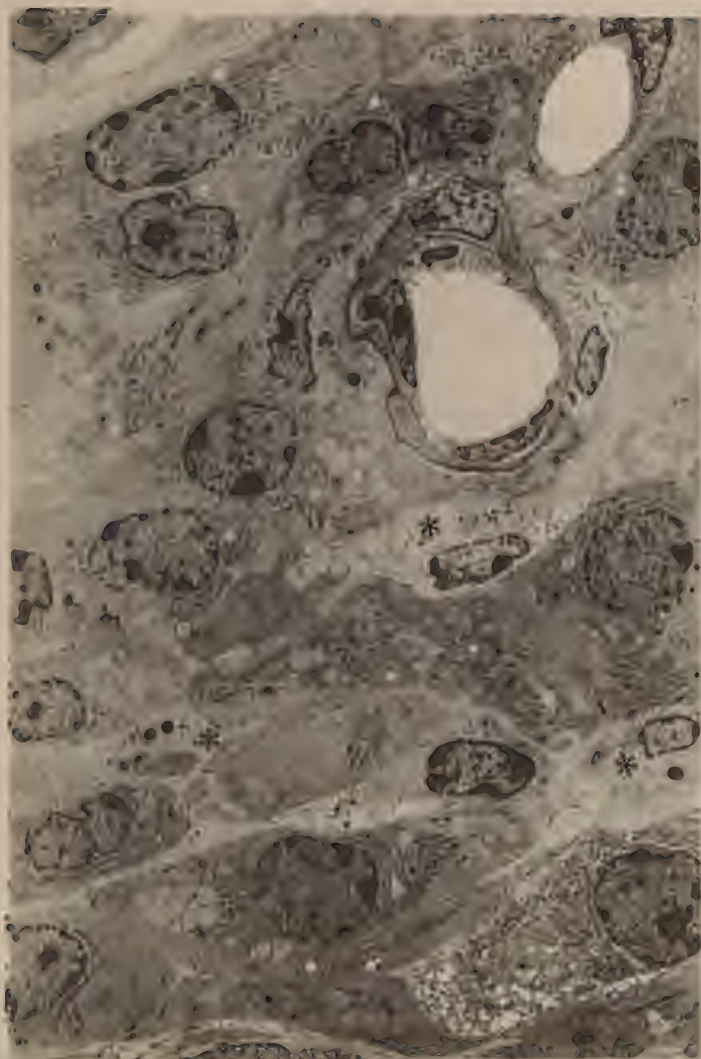


Abb. 10: Leydigzell-Cluster in der 25. Woche. Zwischen den Leydigzellen liegen LIC (Stern). Nicht jede individuelle Leydigzelle besitzt einen Kapillarkontakt. Rechts unten eine degenerierende Leydigzelle. x 3200

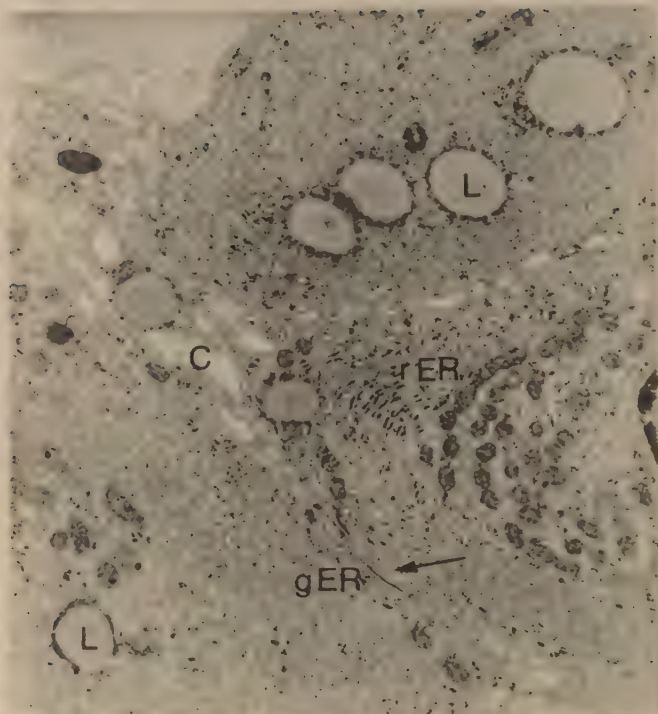


Abb. 11: Benachbarte Leydigzellen eines Clusters können durch gap junctions (Pfeil) funktionell gekoppelt sein und zwischen sich primitive interzelluläre Canaliculi (C) mit Mikrovilli ausbilden. Das dominierende Organell ist das ER. Dieses kann glatt (gER) oder rauh (rER) sein, gehört aber überwiegend zu einer für das Rind typischen oligogranulären Form. Die Mitochondrien sind matrixreich und besitzen sowohl lamelläre wie tubuläre Cristae. Matrixgranula und intramitochondriale Kristalle kommen vor. Mitochondrien liegen meistens in Gruppen. L = Lipidtropfen, x 19000

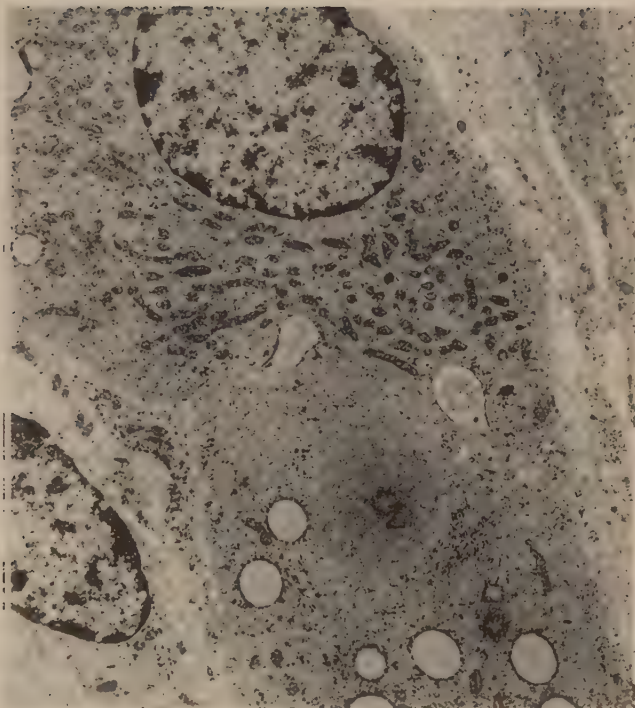


Abb. 12 zeigt eine spezialisierte Form von keulenförmig invaginierten gap junctions. Z = Zentriol, x 9600.

Leydigzellen synthetisieren Androgene. Bis zur 16. Woche werden im peripheren Blutplasma nur geringe Konzentrationen von Testosteron angetroffen. In der 16. Woche erreichen sie Werte von 0,3 - 0,7 ng/ml. Ab der 20. Woche steigt der Testosterongehalt, unterliegt aber in den einzelnen Altersstufen großen Schwankungen. Diese Unregelmäßigkeit beginnt in der 20. Woche und ist auch in der 40. Woche noch vorhanden (Tabelle 7).

Tier- nr.	Alter (Wo.)	Testosteronkonz. ng/ml
1	4	<0,3
2	4	0,4
4	8	0,36
6	8	0,57
7	8	0,36
8	16	0,44
10	16	0,34
11	16	0,55
12	16	0,76
14	20	2,13
15	20	0,65
16	20	2,01
18	30	0,89
20	30	4,35
21	30	1,52
22	40	3,13
23	40	0,84
24	40	8,50
25	40	1,16
28	52	1,24
29	52	1,17

Tabelle 7 enthält die periphere Testosteronkonzentration im Blut der Tiere zum Zeitpunkt der Schlachtung

3.3.2.2 Ontogenetische Entwicklung der Leydigzellpopulation Ultrastruktur

4. Woche (Abb. 13 und 14)

Neben Übergangsformen aus mesenchymähnlichen Zellen (s. o.) sind in der 4. Woche bereits Leydigzellen mit einem hohen Differenzierungsgrad im intertubulären Bereich anzutreffen. Sie liegen sowohl einzeln als auch in Gruppen bevorzugt um Gefäße herum. Ferner lassen sich in der 4. Woche auch degenerierende Leydigzellen beobachten.

Die Kerne der Leydigzellen aus der 4. Woche haben eine ovale Grundform mit unregelmäßiger Außenkontur und tiefen Einkerbungen. Der inneren Kernmembran liegen Heterochromatinschollen an. Wenn ein Nukleolus vorhanden ist, ähnelt er dem erwachsener Tiere. Die prominentesten Zellorganellen sind die Mitochondrien. Sie sind ungleichmäßig verteilt und befinden sich besonders oft im perinukleären Bereich oder konzentrieren sich in den Zellpolen. Ihre Cristae sind vom gemischten Typ, wobei die lamelläre Form über die tubuläre dominiert.

Der Zelleib wird größtenteils vom endoplasmatischen Retikulum ausgefüllt. Sowohl die typische granuläre wie die agranuläre Erscheinungsform kommen vor. Neben membranassoziierten Ribosomen kommen auch einzelne freie Ribosomen und Polyribosomen vor. Das Golgi-Feld ist relativ groß. Viele von den Dictyosomen abgeschnürte Vesikel, auch coated vesicles, liegen in seiner Umgebung.

Nicht in allen Leydigzellen werden Lipidtropfen angetroffen.

Die Zellgrenzen einander angrenzender Leydigzellen haben zumeist einen geraden Verlauf. Es gibt aber öfter wechselseitige Invaginationen von Zellfortsätzen. Die Flächen, welche dem Interstitium zugewandt sind, zeigen zumeist eine gewellte und unregelmäßige Kontur. Bei in Haufen liegenden Leydigzellen kommt es zur Ausbildung zwickelartiger Hohlräume, in welche die beteiligten Zellen schlanke Fortsätze hineinschicken. Diese interstitiellen Räume sind nicht durch Haftstrukturen abgedichtet und beinhalten die gleiche ungeformte Grundsubstanz wie die zellfreien Areale.

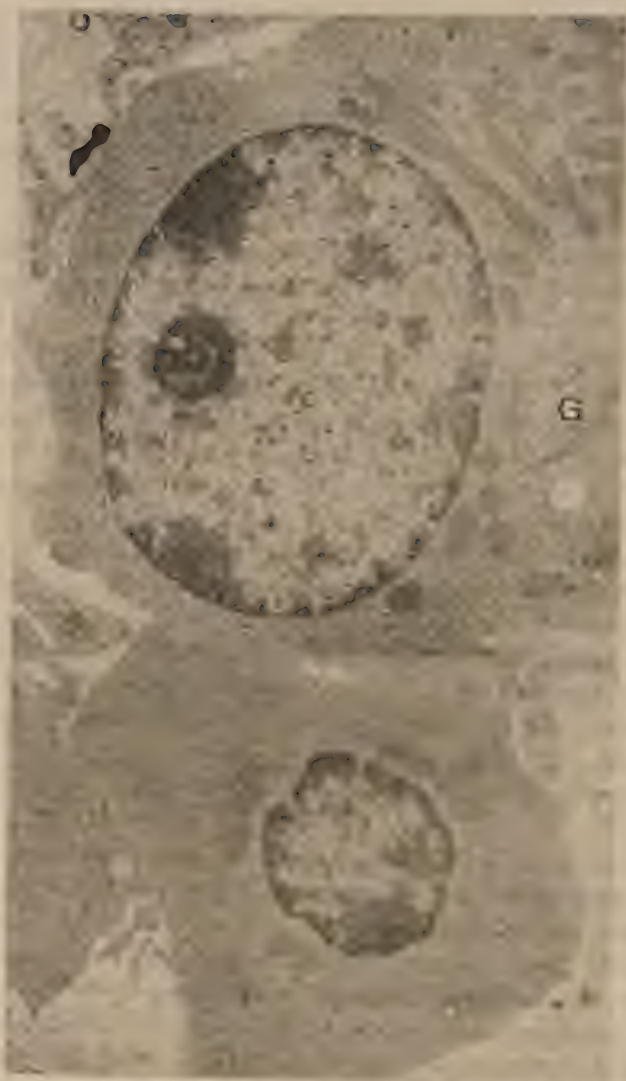


Abb. 13: Junge Leydigzellen besitzen abweichend von den adulten Formen ein großes Golgi-Feld (G) und bilden noch keine gap junctions aus. 4. Woche, x 14600.

Einzelne Leydigzellen oder ganze Leydigzellgruppen können in der 4. Woche der Degeneration anheim fallen. Am Beginn dieses Prozesses beobachtet man eine Hyperchromasie des Zellkernes. Der Zellkern wird gleichzeitig kleiner, im perinukleären Zytoplasma bildet sich ein Schrumpfungshof. Die Mitochondrien verlieren ihre Binnenstruktur und bekommen ein homogenes Aussehen. Die Zisternen des endoplasmatischen Retikulums weiten sich bis zur Bildung vakuoliger Räume.

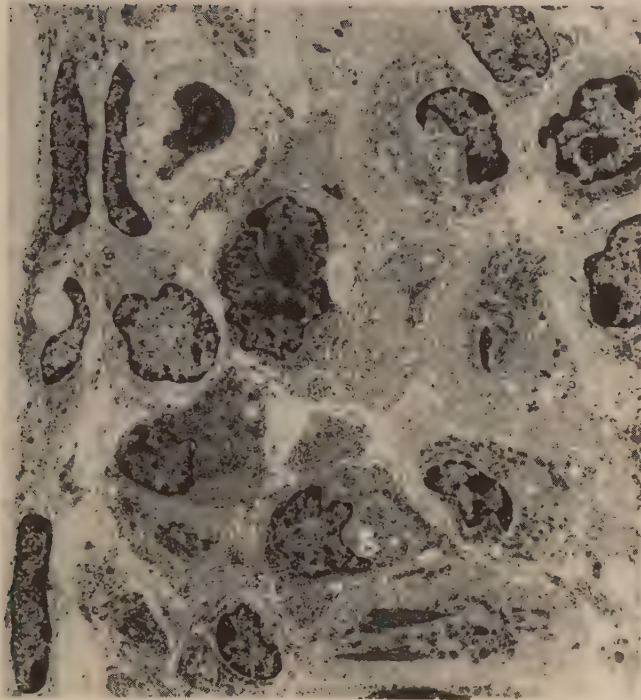


Abb. 14: Areal von defekten Leydigzellen in fortschreitender Degeneration. Die Degeneration wird an den geschrumpften Zellkernen und dem aufgeblähten ER deutlich. 4. Woche, x 4000

8. Woche (Abb. 15)

Neben gut entwickelten Leydigzellen (s. 4. Woche) werden auch in der 8. Woche Leydigzellen in den verschiedenen Stadien ihrer Differenzierung aus mesenchymähnlichen Zellen angetroffen. Dagegen werden Leydigzelldegenerationen zu diesem Zeitpunkt nicht beobachtet. Mesenchymähnliche Zellen, die einen Schritt weiter in der Differenzierung zu Leydigzellen sind, besitzen abgerundete Zellkernkonturen. Auffällig ist die Vergrößerung des Zytoplasmas. Sie beruht in erster Linie auf dem Auftreten von vesikulärem endoplasmatischem Retikulum. Die Flächen zwischen Zellkern, Mitochondrien und rauhem ER sind aufgefüllt mit diesen Vesikeln, die einen flockigen Inhalt besitzen und von dem umgebenden Zytoplasma durch eine Membran abgegrenzt sind.

Die Mitochondrien vermehren sich im Zuge der Differenzierung. Wegen der annähernd gleichen elektronenmikroskopischen Dichte sind sie schwer von dem umgebenden Zytoplasma abzugrenzen.

Leydigzellen, die im Verband liegen, werden erstmals durch typische Gap junctions verbunden. Diese nehmen größere Abschnitte der Zellmembran ein und verlaufen im Schnitt oft wellenförmig.

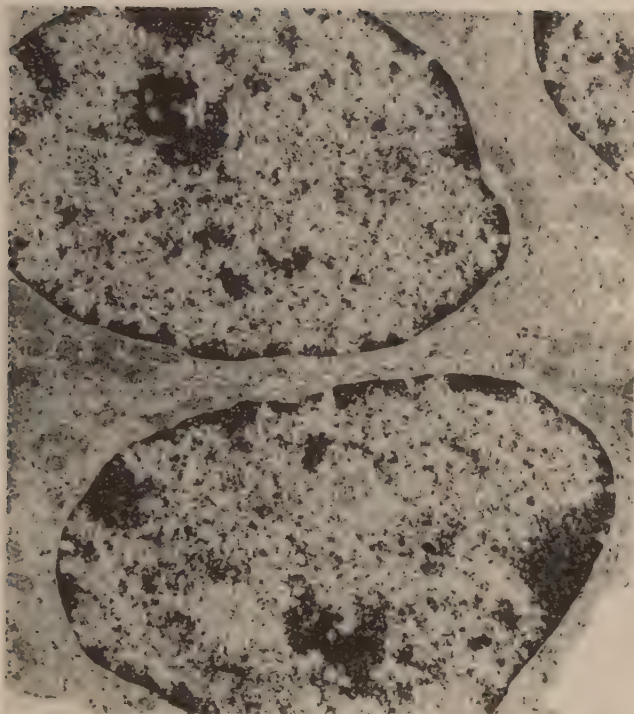


Abb. 15: 2 Leydigzellen der 8. Woche sind über eine lange, wellenförmige gap junction miteinander verbunden. x 14600.

16. Woche (Abb. 16 und 17)

Die Metamorphose von undifferenzierten Zellen in Leydigzellen kann auch in der 16. Woche noch nicht als abgeschlossen betrachtet werden.

In der 16. Woche füllen die Leydigzellen gegenüber den vorangegangenen Altersstufen aber die intertubulären Räume fast vollständig aus. Diese Besatzdichte beruht in erster Linie auf einer weiteren zahlenmäßigen Zunahme der Leydigzellen. Wie oben ausgeführt beträgt der Anteil der Leydigzellen im intertubulären Bereich in der 4. Woche ca. 8%, in der 16. Woche ca. 19%.

Die individuelle Leydigzelle in der 16. Woche weist gegenüber der 4. und 8. Woche aber auch Unterschiede hinsichtlich Zellgröße, Organellenbesatz und Zellkontakte auf.

Die Vergrößerung der Zellen beruht vor allem auf der Vermehrung der Mitochondrien und der Ausdehnung des endoplasmatischen Retikulums. Die Mitochondrien, die größer und zahlreicher geworden sind, liegen zumeist in der Peripherie der Zelle. Zum ersten Mal treten jetzt in ihnen dichte Matrixgranula auf. Golgi-Apparate sind in vielen Zellen nachweisbar. Lipidtropfen unterschiedlicher Größe und Anzahl treten insgesamt vermehrt auf. Das Volumen der Leydigzellen und ihrer runden Kerne erreicht in der 16. Woche fast schon die Werte adulter Tiere.

Zwischen den einzelnen Leydigzellen haben die Zellkontakte gegenüber der 8. Woche weiter zugenommen, fast die ganzen Kontaktflächen zweier benachbarter Leydigzellen können als Gap junction ausgebildet sein. In den Zwickeln zwischen mehreren benachbarten Leydigzellen eines Clusters entstehen regelrechte Canaliculi, die einen feingranulierten Inhalt aufweisen.

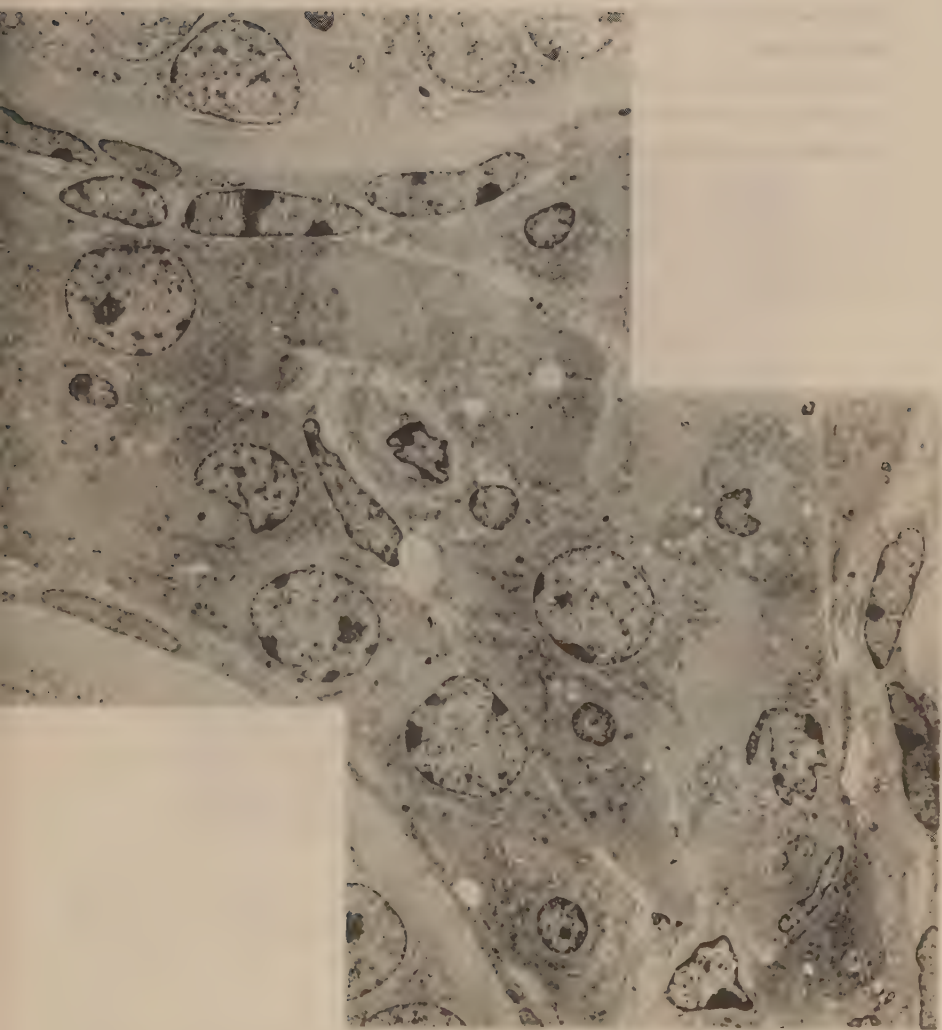


Abb. 16: Diese Aufnahme demonstriert den Zellreichtum im intertubulären Areal der 16. Woche. x 3200.

Eine Vielzahl der Leydigzellen in der 16. Woche lässt Zeichen einer Degeneration erkennen. Die Veränderungen äußern sich bei den einzelnen Zellen in unterschiedlichem Maße und laufen nicht bei allen nach einem einheitlichen Schema ab. Dicht neben degenerierenden Zellen kommen vollständig intakte Zellen auf demselben Schnitt vor.

Neben den schon in der 4. Woche beschriebenen Degenerationen sind in vielen degenerierenden Leydigzellen plurivakuoläre Lipideinschlüsse anzutreffen. Eine Lockerung der Zellkontakte tritt nicht auf.

Diese offensichtlich irreversiblen Degenerationsprozesse können sich bis zur völligen Auflösung oder Schrumpfung der Zellen fortsetzen.

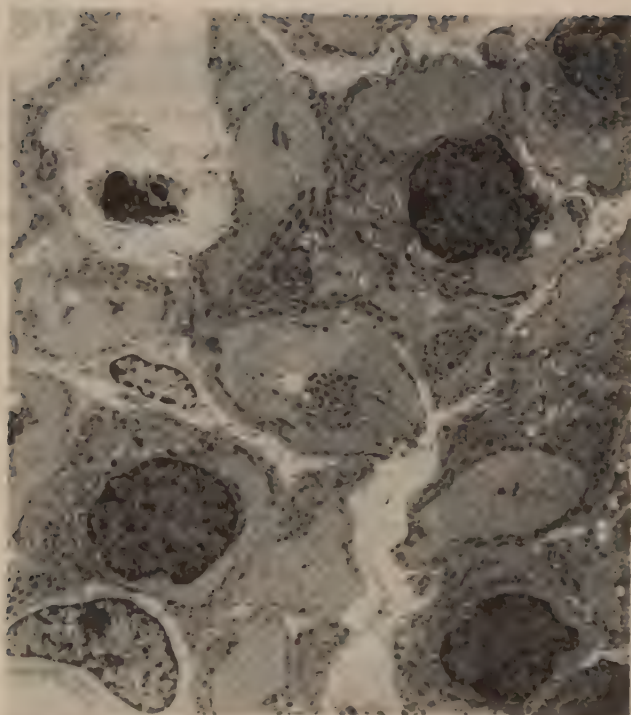


Abb. 17: Leydigzell-Cluster der 16. Woche in beginnender Degeneration. Die Zellen besitzen einen unregelmäßig geformten hyperchromatischen Zellkern. x 4000.

20. Woche (Abb. 18 und 19)

Die Leydigzellen in der 20. Woche haben prinzipiell die gleichen Merkmale wie diejenigen in der 16. Woche. Degenerative Erscheinungen erfassen eine immer größer werdende Zahl. Vesikel von degenerativen Zellen konfluieren oftmals zu großen Vakuolen. Mitochondrien schrumpfen zu einer homogenen Masse. Von der Regression, die sich bis zur 30. Woche in abgeschwächtem Masse fortsetzt, sind alle Regionen des Hodens gleichermaßen betroffen. Dennoch treten nicht alle Leydigzellen der 20. Woche in einen Degenerationsprozeß ein. Völlig intakte Zellen bilden kleine Gruppen und scheinen auch zu einem späteren Zeitpunkt keiner Degeneration anheim zu fallen. Diese persistierende Population von Leydigzellen ist der adulte Leydigzellbestand, der offenbar im gesamten postpuberalen Beobachtungszeitraum kaum verändert wird.

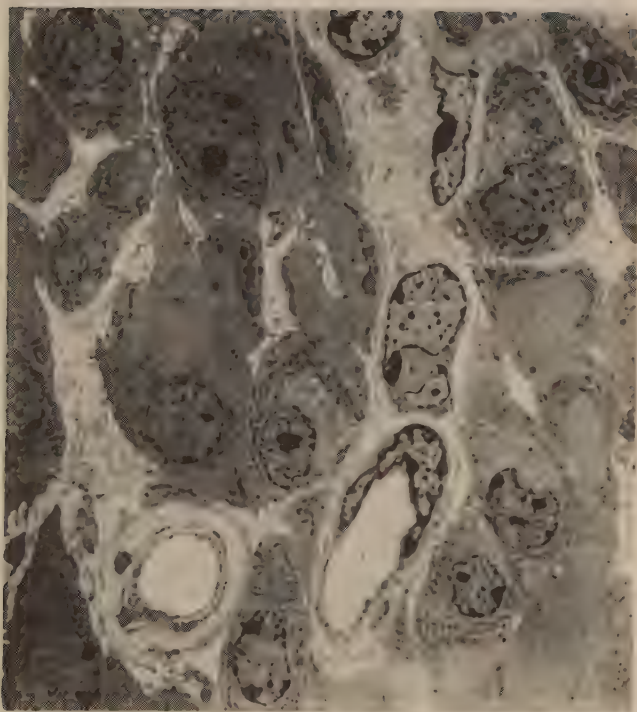


Abb. 18: Die Degeneration von Leydigzellen kann auf einzelne Zellen beschränkt sein. Zwischen intakten Leydigzellen können degenerative Erscheinungsformen mit unregelmäßig gezahntem Zellkern auftreten. x 2600

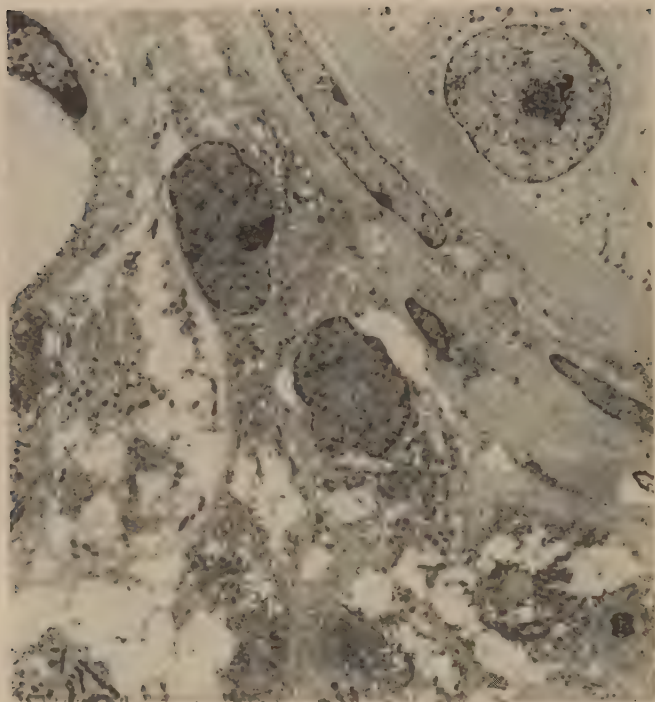


Abb. 19: Bei fortschreitender Degeneration konfluieren die geweiteten Zisternen des ER zu großen Vakuolen. 20. Woche, x 4000.

3.3.3. Ultrastruktur der Lamina propria

Die Lamina propria der Hodentubuli beim Rind besteht aus nicht-zellulärem Anteil (Basallamina, kollagene und elastische Fasern) und zellulärem Anteil (peritubuläre Zellen). Die einzelnen Komponenten erreichen während der postnatalen Ontogenese nicht gleichzeitig den adulten Zustand, sind aber ab der 25. Woche im wesentlichen morphologisch ausdifferenziert.

3.3.3.1 Struktur der Membrana propria ab der 25. Woche

(Abb. 20)

Die Basallamina weist eine deutliche Schichtung auf. Elektronendichte Lamellen wechseln sich mit hellen Zwischenräumen ab. Die dem Tubulus zugewandte Grenzfläche verläuft stark gewellt und sendet knopfförmige Ausbuchtungen in das Tubulusepithel. In dem Spaltraum zwischen Basallamina und peritubulären Zellen liegen Elastin und Filamente unterschiedlichen Durchmessers. Die dickeren davon lassen eine Querstreifung erkennen und können sicher dem kollagenen Formenkreis zugerechnet werden.

Die Tubuli seminiferi, die in der 30. Woche einen Durchmesser von ca. $155\mu\text{m}$ besitzen, nehmen bis zur 78. Woche an Weite zu. Durch diese Vergrößerung wird die Basallamina gedehnt, und dies führt zu einer Verschmälerung im Zuge der weiteren Ontogenese. In der 25. Woche hat die Basallamina eine Stärke von ca. $1,5\mu\text{m}$. Damit ist sie immer noch wesentlich dicker als bei adulten Tieren, wo sie zwischen $0,4$ und $0,8\mu\text{m}$ mißt und an den knopfförmigen Vorwölbungen ca. $1,2\mu\text{m}$ (Wrobel et al., 1979) erreicht.

Kollagene Fibrillen und elastisches Material sind offensichtlich auch auf der Oberfläche der peritubulären Zellen verankert. Diese Strukturen strahlen einerseits in die tubuläre Basallamina ein und verbinden andererseits auch die Oberflächen benachbarter peritubulärer Zellen, was besonders gut an Flachschnitten festzustellen ist. Der Kollagen- und Elastingehalt zwischen den peritubulären Zellen nimmt ab der 25. Woche bis zur 78. Woche kontinuierlich zu. In der Verschiebeschicht jenseits der Lage der peritubulären Zellen lassen sich ebenfalls kollagene Fasern neben Fibrozyten und Fibroblasten beobachten.

Die beim Rind zu Myofibroblasten differenzierten peritubulären

Zellen bilden eine bis zu 5-lagige Zelltapete in der Membrana propria. Der langgestreckte Zellkern ist von einem schmalen Saum von mäßig dichtem Grundzytoplasma mit freien Ribosomen umgeben. An den beiden Kernpolen findet sich ein voluminöserer Zytoplasmabereich, in dem hauptsächlich die Organellen liegen. Kleine matrixreiche Mitochondrien sind in unterschiedlicher Anzahl vorhanden. Schlanke Profile des rauhen ER und Polyribosomen sind hier ebenfalls zu beobachten. Die elektronendichten subplasmalemalen und intrazellulären Befestigungszonen für die kontraktilen Fibrillen der Zellen treten stark hervor. An der Zelloberfläche lassen sich Reihen von mikropinozytotischen Bläschen identifizieren. Die Myofibroblasten sind über extrazelluläre Filamente und direkt über Zellhaften miteinander verbunden. Letztgenannte liegen besonders häufig zwischen den Fortsätzen.

Abb. 20: nächste Seite.

Das Keimepithel wird durch die Lamina propria vom intertubulären Gebiet abgegrenzt. Ab der 25. Woche herrschen prinzipiell die gleichen Verhältnisse wie beim adulten Tier. Die geschichtete Basallamina wölbt sich in das Tubulusepithel vor, während auf der dem Interstitium zugewandten Seite kollagene Fibrillen liegen. Die kontraktilen peritubulären Zellen bilden bis zu 4 Lagen. 25. Woche, x 11900.



3.3.3.2 Ontogenese der Membrana propria von der 4. bis zur 20. Woche

4. Woche (Abb. 21 und 22)

Die Grenze zwischen Tubulusepithel und Membrana propria verläuft glatt bis ganz schwach gewellt. Primitive Hemidesmosomen sind an der basalen Stützzellfläche ausgebildet. Die Basallamina ist ca. $2\mu\text{m}$ dick und weist einen Schichtenbau auf, bei dem annähernd gleich dicke Lagen von elektronendichterem und elektronendurchlässigerem Material aufeinanderfolgen. Die Schichtung der Basallamina ist zum Tubulusepithel hin deutlicher ausgeprägt als in der Peripherie. In der Regel liegt zwischen Basallamina und peritubulärer Zelllage ein insgesamt schmaler aufgehellter Raum, in dem flockiges und geordnetes Material oder aber auch einige Mikrofilamente angetroffen werden. Die peritubuläre Zelltapete ist 1-2-schichtig. An einigen Stellen liegen mononukleäre Zellen direkt der Basallamina an.

Vom Feinbau und Organellengehalt lassen sich die peritubulär gelegenen Zellen in der 4. Woche nicht von den undifferenzierten mesenchymähnlichen Zellen des übrigen intertubulären Gebietes abgrenzen. Die zytoplasmatischen Fortsätze sind relativ kurz. Die Zellkerne haben eine ovale Form. Die Zellen enthalten ein mäßig dichtes Grundzytoplasma mit freien Ribosomen und wenige kleine matrixreiche Mitochondrien, die bevorzugt in Nähe der Kernpole anzutreffen sind. Hier liegen auch schlanke Profile des rauen endoplasmatischen Retikulums, dessen Zisternen mit einem flockigen Inhalt gefüllt sind.

Die einzelnen Lagen der peritubulären Zelltapete sind durch schmale interzelluläre Straßen voneinander getrennt. In diesen Zwischenräumen ist amorphe interzelluläre Substanz oder etwas Elastin vorhanden.

Kontraktile Filamente, Zellkontakte und mikropinozytotische Bläschen sind in dieser Altersstufe in den Zellen noch nicht vorhanden.



Abb. 21: Die Basallamina der 4. Woche zeigt zum Tubulusepithel hin einen annähernd geraden Verlauf. An der Seite zum intertubulären Bereich liegt zwischen der Basallamina und den peritubulären Zellen ein schmaler aufgeschellter Raum mit flockigem Material. Die peritubulären Zellen besitzen einen ovalen Zellkern und stellen sich zytologisch als undifferenzierte mesenchymähnliche Zellen dar. x 11900

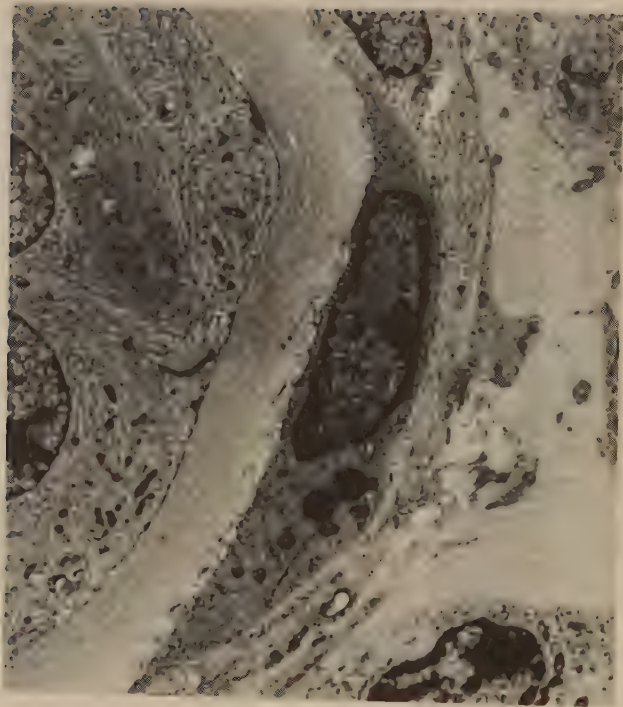


Abb. 22: Eine mononukleäre Zelle in direktem Kontakt mit der Basallamina. 4. Woche, x 7300

8. Woche (Abb. 23)

Die Basallamina hat gegenüber der 4. Woche geringfügig an Dicke zugenommen (ca. $2,2\mu\text{m}$). Die Schichtung ist in den zentralen zwei Dritteln deutlich und regelmäßig, im peripheren Drittel undeutlich ausgeprägt. Dafür ist die Basallamina im peripheren Drittel etwas weniger elektronendicht. Die hemidesmosomalen Kontaktflächen der Tubulusstützzellen haben sich vergrößert, in den Stützzellen treten feine Fibrillenbündel auf, die parallel zur Zellbasis verlaufen.

Um die Basallamina herum gruppieren sich zumeist 3 Lagen gestreckter, flacher peritubulärer Zellen, die sich gegenüber der 4. Woche vergrößert haben. Sie enthalten mehr rauhes ER, welches langgestreckte Zisternen bildet, die mit einem dunklen Inhalt gefüllt sind. An einigen Tubuli läßt sich besonders an den inneren Zellen der peritubulären Schicht eine beginnende Differenzierung zu kontraktilen Zellen beobachten. So treten an mehreren Stellen subplasmalemmal gelegene Bündel intrazytoplasmatischer Filamente von 7nm Dicke auf. Vereinzelt lassen sich an der Zelloberfläche pinozytotische Bläschen beobachten. Zwischen benachbarten peritubulären Zellen sind einfach strukturierte desmosomenähnliche Haftstrukturen ausgebildet.



Abb. 23: In der 8. Woche haben sich die peritubulären Zellen gestreckt, ihre Zellkerne abgeflacht. Durch Vermehrung des ER, Ausbildung von pinocytotische Bläschen und interzelluläre Kontakte schreitet die Differenzierung der peritubulären Zellen voran.
x 14600

16. Woche (Abb. 24)

Die tubuläre Basallamina hat im gesamten Bereich weiter an Dicke zugenommen und erreicht nun Werte von ca 2,9 μ m. Zwischen Basallamina und der peritubulären Zellschicht tritt ein Spaltraum auf, der neben amorphem Material in steigendem Maße kollagene Fibrillen enthält.

Die individuellen peritubulären Zellen haben sich gegenüber der 8. Woche weiter beträchtlich verlängert. Mitochondrien, mikropinozytotische Bläschen, freie Ribosomen, rauhes endoplasmatisches Retikulum und Zellkontakte haben sich vermehrt. Als zusätzliche Merkmale können vereinzelt osmiophile dense bodies und Mikrotubuli in den Zellen beobachtet werden. Intrazellulär und subplasmalemmal sind in dieser Altersstufe vermehrt Verdichtungszone zur Anheftung der zytoplasmatischen Filamente anzutreffen. Von diesen Bereichen ziehen auch extrazelluläre Filamente zur Basallamina und zu benachbarten peritubulären Zellen.

Die peritubulären Zellen haben somit in diesem Zeitpunkt bereits eine eindeutige Spezialisierung zu kontraktilen Zellen durchlaufen und lassen sich morphologisch von benachbarten Bindegewebszellen klar abgrenzen. Sie stehen ab diesem Zeitpunkt auch sicher nicht mehr als Blastem für die Differenzierung von Leydigzellen zur Verfügung.



Abb. 24: Die Basallamina hat sich weiter verbreitert und erreicht mit ca. $3\mu\text{m}$ ihre größte Dicke in der Ontogenese. 16. Woche, x 14600.

20. Woche (Abb. 25)

Gegenüber der 16. Woche läßt sich feststellen, daß die Grenzflächen zwischen Basallamina und intratubulären Stützzellen jetzt nicht mehr geradlinig verlaufen. Knopfförmige Ausbuchtungen der Lamina ragen in das Tubulusepithel hinein. Die Lamellierung der Membrana propria ist nach wie vor erhalten, allerdings verlaufen die dunklen Lamellen jetzt nicht mehr streng parallel, so daß zwischen ihnen unregelmäßig geformte Aufhellungszonen zu beobachten sind. Die Dicke der Basallamina hat sich von der 16. Woche, in der sie am dicksten ist, auf ca. $2,5\mu\text{m}$ reduziert. Zwischen Basallamina und peritubulärer Zellschicht wird neben kollagenen Fibrillen auch Elastin beobachtet.

Gegenüber der Situation in der 16. Woche hat der Organellengehalt der peritubulären Zellen weiter zugenommen. Im Zytoplasma kann man weiterhin Mikrotubuli und mittelgroße Lipidtropfen sehen.



Abb. 25: An Flachschnitten der peritubulären Zellen kann ihre Verankerung durch feine Filamente an der Basallamina und an benachbarten peritubulären Zellen beobachtet werden.
20. Woche, x 9600

3.3.4 Ultrastruktur der mononukleären Zellen

(Abb. 26)

Im intertubulären Gewebe sind mononukleäre Zellen während des gesamten Beobachtungszeitraumes anzutreffen. Diese Gruppe stellt keine einheitliche Zellpopulation dar, sondern entwickelt sich sowohl aus lymphozytären wie auch aus monozytären Vorläufern. Hodenlymphozyten haben einen Durchmesser von ca. 6µm. Das Kern-Plasmaverhältnis ist zugunsten des Zellkerns verschoben. Die Lymphozyten besitzen einen dunklen eingekerbten Zellkern. Das Zytoplasma beschränkt sich auf einen schmalen Saum um den Kern und enthält wenig Organellen. Freie Ribosomen liegen gleichmäßig verteilt in der dichten zytoplasmatischen Matrix. Selten werden kurze Schläuche des rauhen endoplasmatischen Retikulums, ein Golgi-Apparat oder lysosomale dense bodies angetroffen. Die wenigen Mitochondrien sind unregelmäßig verteilt. Hodenlymphozyten können sich im Interstitium zu Plasmazellen differenzieren. Dies bedeutet, daß der Hoden über ein spezielles humorales Abwehrsystem verfügt.

Zellen der zweiten, der monozytären Reihe werden in verschiedenen Differenzierungsstadien angetroffen.

Monozyten liegen am Rande von Leydigzell-Clustern, in der Nähe der Tubuluswandung oder in den großen zellarmen Arealen. Diese Zellen besitzen einen heterochromatinreichen ovalen Zellkern, welcher von einem unterschiedlich breiten Zytoplasmasaum umgeben ist, von dem Fortsätze in die intertubuläre Grundsubstanz hineinragen. In diesem schmalen Zytoplasmabereich liegen einige Mitochondrien. Freie Ribosomen sind gleichmäßig im Zytoplasma verteilt und können sich zu Polyribosomen aneinanderlagern. Das spärliche rauhe ER tritt in Form kurzer oder langer Schläuche auf. Ein unscheinbarer Golgi-Apparat wird beobachtet, in Kernnähe liegt oftmals ein Zentriolenpaar.

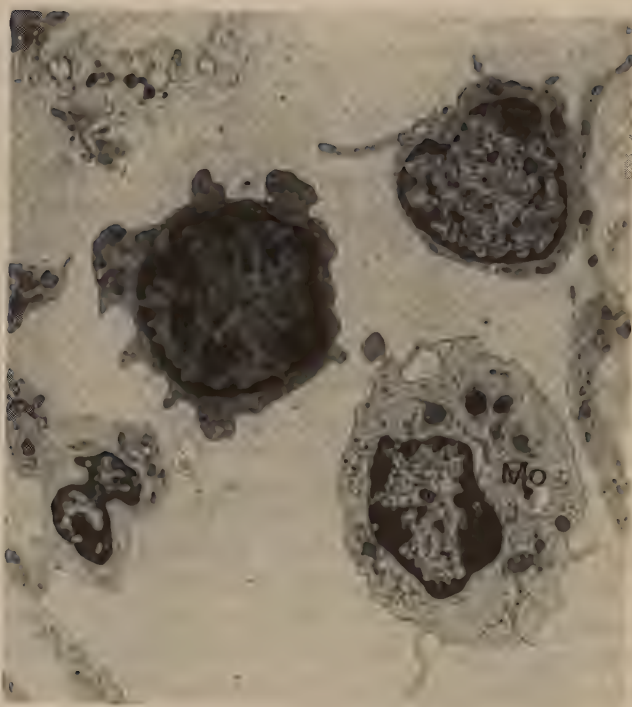


Abb. 26: gibt einen Überblick über die verschiedenen Entwicklungsstadien der mononukleären Zellen. Lymphozyten (Ly) und ein Monozyt (Mo) aus dem Hoden der 4. Woche, x 7300

4. Woche (Abb. 27 und 28)

Monozyten sieht man sowohl peritubulär, wo sie innerhalb des Verbandes der undifferenzierten mesenchymähnlichen Zellen und in direktem Kontakt mit der Basallamina gefunden werden, aber auch an anderen Stellen innerhalb des intertubulären Bereiches. Man sieht sie allerdings nie zwischen den Leydigzellen, wenn diese sich bereits zu Clustern formiert haben.

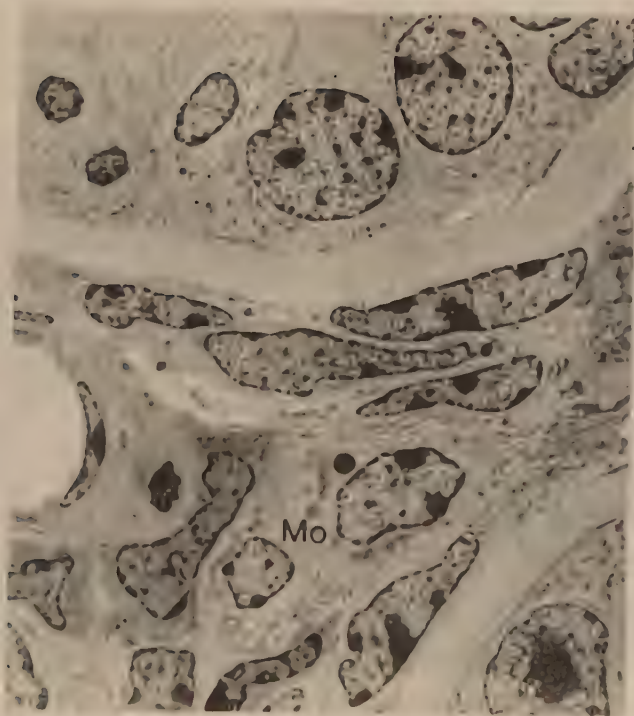


Abb. 27: Überblick über die Lokalisation von Monozyten (Mo) im intertubulären Bereich. 4. Woche, x 4000.

Nur bei vier Wochen alten Tieren werden im Hoden ferner typische Makrophagen angetroffen, die alle Anzeichen einer lebhaften Phago- und Pinozytose erkennen lassen. Sie zeigen außerordentlich stark gegliederte Außenkonturen. Ihre Filopodien und Fortsätze enthalten viele freie Ribosomen und Polyribosomen. Oftmals ist ein großes vesikuläres Golgi-Feld angeschnitten. Die Zellen enthalten relativ viele Mitochondrien vom Cristatyp. Zisternen des rauhen ER liegen vorwiegend im zentralen Teil der Zelle. Ein herausragendes Merkmal sind resorptive Vakuolen unterschiedlicher Größe mit feingranulärem flockigem Inhalt und gelegentlich multivesikuläre Körper. Der Zellkern ist relativ klein und verfügt über eine elektronendichte Struktur. Zwischen Monozyten und Makrophagen lassen sich im Hoden 4 Wochen alter Tiere verschiedene Übergangsstadien finden.

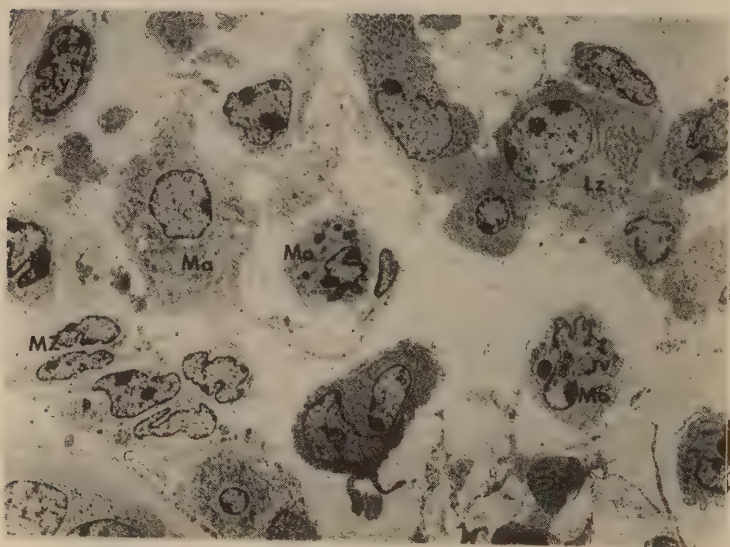


Abb. 28: Aspekte der intertubulären Topographie im 4 Wochen alten Hoden. In einer faserarmen Grundsubstanz liegen intakte Leydigzellen (Lz), mesenchymähnliche Zellen (MZ) und verschiedene Typen mononukleärer Zellen. Lymphozyten (Ly), sich differenzierende Monozyten (Mo) und Makrophagen (Ma). x 2600

8. Woche

Die Gesamtzahl der mononukleären Zellen verändert sich in der gesamten postnatalen Ontogenese nur geringfügig. Auch in der 8. Woche kann man sowohl Zellen der lymphozytären wie monozytären Reihe antreffen. Typische Makrophagen werden nicht mehr gesehen.

16. Woche und älter (Abb. 29 und 30)

In der 16. Woche beginnt sich die adulte Situation herauszubilden. In der Gruppe der mononukleären Zellen kommt es zu einer quantitativen Verschiebung. Der Anteil der Lymphozyten geht zurück. Sie liegen nicht mehr unmittelbar an der Basallamina aber doch bevorzugt in der Nachbarschaft zur Membrana propria sowie in der Nähe von Blutgefäßen.

Die Zellen aus dem monozytären Formenkreis treten einmal als wenig differenzierte Monozyten zum anderen auf dem Wege zur Differenzierung zu Light Intercalated Cells auf.

Die Light Intercalated Cell (LIC) ist eine besondere monozytäre Differenzierungsform, die räumlich besonders eng mit clusterbildenden Leydigzellen assoziiert ist und ab der 16. Woche, also bereits präpuberal, im Hoden auftritt. Sie besitzt einen ovalen bis länglichen Zellkern. Prä- und postpuberale LIC haben ein stark aufgehelltes Grundzytoplasma. In diesem liegen Mitochondrien vom Cristatyp, hantelförmige dense bodies, ein schlauchförmiges rauhes ER sowie eine Vielzahl kleiner bis mittelgroßer zartwandiger resorptiver Vesikel, die teilweise mit einem feingranulären Inhalt gefüllt sind. Präpuberale wie adulte LIC besitzen unterschiedlich lange Fortsätze, die mit den benachbarten Leydigzellen in nachbarschaftliche Beziehung treten, ohne allerdings Zellhafte auszubilden.

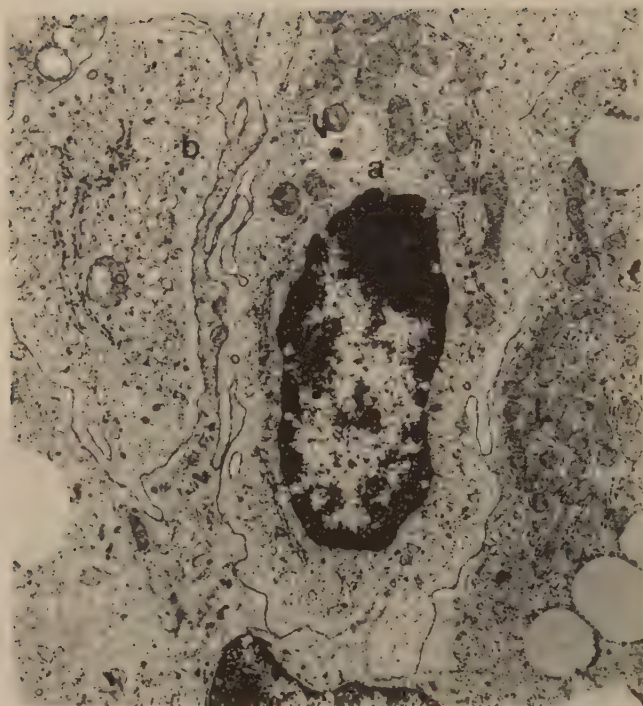


Abb. 29: 2 LIC (a,b) aus dem Hoden eines 16 Wochen alten Tieres, x 14600. Die zentral gelegene (a) hat einen engen Kontakt zu einer Leydigzelle (L).

Der wesentliche Unterschied zwischen der prä- und postpuberalen LIC liegt in dem unterschiedlichen Volumen der Zellen, die im adulten Zustand bedeutend größer sein können. Die LIC erwachsener Tiere lassen auch stärkere morphologische Anzeichen von Endocytose erkennen. Sie resorbieren das im Hoden reichlich vorhandene extrazelluläre Präzipitat, das aus den besonders durchlässigen Hodenkapillaren und postkapillären Venulen in die Matrix abfiltriert wird. Ferner sind LIC offensichtlich in der Lage, kolla-

gene Fasern abzubauen. Bei den adulten LIC ist das äußere Plasmalemm gegenüber der Umgebung schwer abzugrenzen, während die Zellgrenzen der präpuberalen LIC deutlicher auszumachen sind. Anschnitte von LIC-Fortsätzen werden weit entfernt von den dazugehörigen Perikaryen im interzellulären Raum bzw. zwischen benachbarten Leydigzellen angetroffen. Die präpuberalen LIC zeigen einen größeren Besatz an Polyribosomen als die postpuberalen.



Abb. 30: Im intertubulären Areal eines geschlechtsreifen Bullen liegen LIC als langgestreckte Zellen, deren Grenzen nur schwerlich auszumachen sind. x 7300

4. Diskussion

4.1 Korrelation von Alter, Körpergewicht und Hodengewicht.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Entwicklung von Körper- und Hodengewicht in dem Zeitraum von der 4. bis 52. Woche nicht konform verläuft. Während die Entwicklung des Körpergewichtes unserer Tiere annähernd linear zunimmt, kann man beim Hoden eine Phase langsamen Wachstums von der 4. bis 20. Woche und eine Phase gesteigerter Volumenvermehrung zwischen der 20. und 52. Woche registrieren. Diese Beobachtung bestätigt im Prinzip die Resultate früherer quantitativer Messungen, selbst wenn sich die Zeitangaben nicht völlig decken. So stellen Abdel-Raouf (1960) bei schwedischen RB-Bullen zwischen der 16. und 48. Woche, Attal und Courot (1963) bei Bullen der Race Normande zwischen der 12. und der 52. Woche, Schwark et al. (1972) bei Bullen verschiedener Rassen zwischen der 24. und 40. Woche und Curtis und Amann (1981) bei Holstein-Bullen zwischen der 24. und 32. Woche eine Phase beschleunigten Hodenwachstums fest. Die relativ frühe Beendigung der akzelerierten Wachstumsphase in den Untersuchungen von Curtis und Amann (1981) ist dadurch zu erklären, daß diesen Autoren keine älteren Tiere zur Verfügung standen. Der Beginn des beschleunigten Hodenwachstums fällt mit der Etablierung des adulten optimalen Spermatogeneseablaufes zusammen (Attal und Courot, 1963). In der Zeit des beschleunigten Wachstums findet die Lumenbildung in den Tubuli seminiferi statt, nimmt der Querschnitt der Tubuli stark zu und laufen abortive spermatogenetische Prozesse mit einer hohen Degenerationsrate im Keimepithel ab. Die gesteigerte Gewichtszunahme des Hodens korrespondiert aber nicht allein mit den Entwicklungsprozessen der Tubuli seminiferi, sondern wird auch von dem Wachstumsverhalten des intertubulären Areals aktiv beeinflusst.

4.2 Das Verhältnis zwischen Tubuli seminiferi und intertubulärem Areal in der postnatalen Ontogenese.

Mittelt man unsere Meßwerte aus den 3 Entnahmestellen bei Tieren gleichen Alters, so nimmt das intertubuläre Areal bei 4 Wochen

alten Kälbern ca. 50% ein. Bis zur 30. Woche geht der intertubuläre Anteil am Hodengewebe auf ca. 20% zurück und schwankt in der weiteren Entwicklung bis zur 52. Woche um diesen Wert. Bei 78 Wochen alten Tieren macht es dann ca. 15% aus. Die Differenz zwischen diesen Werten und 100% ist der Tubulusanteil. In der Literatur gibt es keine kontinuierliche Untersuchung über das quantitative Verhältnis dieser beiden Organbestandteile während der postnatalen Ontogenese des Rinderhodens. Vergleicht man die punktuellen Angaben bei Attal und Courot (1963), Ströbel (1967), Humphrey und Ladds (1975), Curtis und Amann (1981), die mit unterschiedlicher morphometrischer Methodik und bei verschiedenen Rinderrassen in einem vergleichbaren Zeitraum erhoben wurden mit unseren eigenen Werten, so läßt sich eine recht gute Übereinstimmung konstatieren. Der Anteil des intertubulären Areals am Hodengewebe geht von ca. 55% zum Zeitpunkt der Geburt (Attal und Courot, 1963) bis auf Werte von ca. 20% bei jungadulten Tieren zurück, wobei die Rasse keine Rolle spielt.

Eine wichtige Konsequenz aus unserer Untersuchung ist, daß während der gesamten Ontogenese (4. - 52. Woche) sich das prozentuale Verhältnis von Tubuli und intertubulärem Areal regional unterschiedlich darstellt. Der Tubulusanteil ist in der subtunikalen Entnahmestelle D signifikant höher als in den Entnahmestellen C und B. Für diesen lokalen Effekt ist in erster Linie ein stärkerer Vaskularisationsgrad des zentralen und retenahen Hodengebietes verantwortlich. Bisherige Untersuchungen zur postnatalen Ontogenese stützen sich entweder nur auf eine einzige Entnahmestelle pro Hoden (Attal und Courot, 1963; Curtis und Amann, 1981) oder sind von der Fragestellung so angelegt (Abdel-Raouf, 1960), daß ein regionaler Unterschied nicht festgestellt werden konnte. Untersuchungen am adulten Rinderhoden von Humphrey und Ladds (1975) mit Entnahmestellen am kranialen und kaudalen Hodenpol sowie aus dem äquatorialen Bereich berichten über einen signifikant niedrigeren Kollagengehalt am kranialen Hodenpol, während Amann (1962) und Swierstra (1966) an den gleichen Entnahmestellen keine regionalen Unterschiede fanden.

Unabhängig von diesen regionalen Unterschieden in den Entnahmestellen B, C und D treten innerhalb der einzelnen intertubulären Territorien charakteristische Verteilungsmuster von Zellen und Grundsubstanz während der postnatalen Ontogenese auf, welche nur nach Perfusionsfixation artefaktfrei konserviert werden. In der

4. und 8. Woche gibt es zellreiche intertubuläre Areale, die insbesondere subtunikal angetroffen werden, und andere Areale, die zellarm und matrixreich sind. In der 16. und 20. Woche ist das gesamte intertubuläre Gebiet des Hodens fast gleichmäßig mit Zellen ausgefüllt. Dieser Tatbestand ist auf zahlenmäßige Zellvermehrung, individuelle Leydigzellvergrößerung sowie zunehmende Tubulusausdehnung zurückzuführen. Von der 25. Woche ab wird die adulte intertubuläre Topographie beobachtet. Zwischen engbenachbarten Tubulusschlingen liegen schmale zellarme Stromastrassen. In den vieleckigen Zwickeln, wo 3 oder 4 Tubulusschlingen zusammen treffen, liegen die größeren Blut- und Lymphgefäße. Ferner findet man hier entweder dichte Leydigzell-Cluster, oder der Raum um die Gefäße ist vorwiegend von bindegewebiger Matrix und kollagenen Fasern ausgefüllt.

4.3 Das Verhalten der Leydigzellen in der postnatalen Ontogenese

Bei allen hierauf untersuchten Säugetieren wurde eine fetale und eine postnatale Population von Leydigzellen im Hoden festgestellt. Das Entwicklungsmuster der postnatalen Population scheint allerdings bei den einzelnen Spezies erheblich zu variieren. Diese Unterschiede betreffen vor allem das erstmalige Auftreten von Leydigzellen nach der Geburt und ihr Verhalten in der präpuberalen Periode. Auch beim Rind wird der Zeitpunkt, an dem eindeutig differenzierte Leydigzellen nach der Geburt erstmalig im Hoden zu beobachten sind, bislang noch kontrovers diskutiert. Hieran ist einmal die Schwierigkeit schuld, Leydigzellen im Paraffinschnitt eindeutig von anderen intertubulären Zellen abzugrenzen. Dennoch kommt Bascom bereits 1923 in der ersten Untersuchung über die Leydigzellen des Rindes zu der richtigen Feststellung, daß diese Zellen ab der frühen Fetalzeit (30mm SSL) bis zum adulten Tier permanent in der Gonade anzutreffen sind, wobei ihre Anzahl um den Geburtstermin herum allerdings stark zurückgeht. Ansonsten wird die viel zitierte Meinung von Hooker (1944) übernommen, postnatale Leydigzellen treten erst ab der 14. postnatalen Woche auf; vorher seien im intertubulären Areal lediglich Mesenchymzellen anzutreffen. Zwischen dem Auftreten der fetalen und der puberalen Population läge demnach eine Phase ohne Leydigzellen (Santamarina und Reece, 1957; Sinowatz et al., 1983),

und beide Populationen wären demnach klar gegeneinander abzugrenzen.

Unsere Untersuchungen zeigen eindeutig, daß von der 4. postnatalen Woche ab Leydigzellen im Hoden des Rindes vorkommen und ca. 8% aller Zellen im intertubulären Kompartiment ausmachen, wo die mesenchymähnlichen Zellen allerdings mit ca. 72% zahlenmäßig klar dominieren. Die Beobachtungen, daß die fetale Leydigzellpopulation gegen Ende der Gravidität ca. 10% des Hodenvolumens ausmacht (Hullinger und Wensing, 1985), daß in der ersten postnatalen Woche nur wenige Leydigzellen angetroffen werden (Fossland und Schultze, 1961) und unsere Feststellung, daß in der 4. Woche aber nicht in der 8. Woche neben intakten auch degenerierende Leydigzellen ultrastrukturell zu identifizieren sind, sprechen alle dafür, daß innerhalb der ersten postnatalen Lebenswoche fetale und postnatale Leydigzellen nebeneinander existieren. Ab der 8. Woche gibt es dann nur noch die postnatale Population, die sich etwa im gleichen Maße vermehrt, wie sich die mesenchymähnlichen Zellen verringern.

Bisher bei keiner anderen Spezies beobachtet wurde das Phänomen, daß präpuberal gebildete Leydigzellen bereits nach kurzer Zeit wieder zugrunde gehen. Wir konnten dies in großem Stil zwischen der 16. und 30. Entwicklungswoche feststellen. Ob die degenerierenden Leydigzellen eine kurzzeitige eigene Population mit definierter Funktion (z. B. Synthese von Östrogenen und Androstendion) darstellen, oder ob allein die Expansion anderer Hodenbestandteile die Leydigzellen reduziert, ist zur Zeit unklar. Bei dieser postnatalen Regression handelt es sich um irreversible Degenerationsvorgänge, während die Regression der fetalen Leydigzellpopulation in großem Stil auch eine Rückdifferenzierung zu mesenchymähnlichen Zellen beinhaltet (Schräg, 1983). Die definitiven Leydigzellen, die ab der 30. Woche gefunden werden, stellen eine konservative Zellpopulation dar. Sie machen knapp über 30% aller intertubulären Zellen oder ca. 7% des Hodenvolumens (Ströbel, 1967) aus, sind die definitiven Testosteronproduzenten und verändern sich während des weiteren Lebens kaum. Ihr Volumenanteil beträgt auch bei alten Bullen ca. 7% (Ströbel, 1967). Mitosen ausdifferenzierter Leydigzellen werden nur in Ausnahmefällen gesehen, und Mesenchymzellen stehen beim Rind nach der Pubertät im Hoden für eine Transformation nicht mehr zur Verfügung. Beim Menschen beschreiben Nistal et al. (1986) während der Leydigzell-

entwicklung 4 Typen, nämlich fetale, infantile, präpuberale und reife Zellen, alle mit deutlichen morphologischen Unterschieden. Fetale (Schrug, 1983) präpuberale und adulte Leydigzellen des Rindes unterscheiden sich nur geringfügig in ihren ultrastrukturellen Merkmalen. Die Unterschiede betreffen neben der Kernform vor allem die quantitative Entfaltung des endoplasmatischen Retikulums und der Mitochondrien, sind also Ausdruck für eine abgestufte Potenz zur Steroidsynthese. Außerdem nimmt die funktionelle Kopplung der Leydigzellen durch die Ausbildung von Gap junctions im Zuge der Ontogenese deutlich zu.

4.4 Mononukleäre Zellen im Hoden

Von der 4. bis 52. Entwicklungswoche werden freie mononukleäre Zellen in beträchtlicher numerischer Anzahl im Hoden angetroffen. Sie machen zwischen 20 und 30% aller Zellen aus, beanspruchen wegen ihrer relativ geringen Größe aber einen wesentlich kleineren Flächen- und Volumenanteil.

Die mononukleären Zellen des Rinderhodens bilden nach ihren ultrastrukturellen Merkmalen keine einheitliche Population, sondern gehören einer lymphozytären und einer monozytären Linie an. Lymphozyten werden innerhalb der Membrana propria und im übrigen intertubulären Bereich angetroffen. Sie fehlen zwischen ausdifferenzierten Leydigzellen. Hodenlymphozyten stellen in der 4. und 8. Woche die Mehrzahl der mononukleären Zellen, ihre Anzahl geht später leicht zurück. Hodenlymphozyten können sich innerhalb des Interstitiums zu Plasmazellen differenzieren. Der Hoden verfügt somit über eine organeigene Produktionsstelle für humorale Antikörper.

Während Lymphozyten und Plasmazellen in Paraffinschnitten relativ gut zu identifizieren sind, gestaltet sich die Zuordnung der Zellen der monozytären Differenzierungsreihe (Monozyten, Makrophagen, LIC) auf dem lichtmikroskopischen Niveau schwierig. Sie sind bei quantitativen Untersuchungen am Rinderhoden deswegen bisher unberücksichtigt geblieben und dürften die Zahlenangaben über Leydigzellen und Fibroblasten verfälscht haben. Typische Makrophagen mit allen morphologischen Anzeichen einer lebhaften Endozytoseaktivität werden lediglich im intertubulären Areal von 4 Wochen alten Tieren angetroffen. Ab der 16. Entwicklungswoche machen die charakteristischen LIC einen Großteil der mononukleären Zellpopulation aus. Morphologische Übergangsformen zwischen

undifferenzierten Monozyten und LIC werden beobachtet. Da die LIC topographisch und funktionell eng mit den Leydigzellen assoziiert sind (Wrobel et al., 1981) dürften sie im Rinderhoden ähnliche Aufgaben erfüllen wie die Hodenmakrophagen bei anderen Spezies.

Makrophagen sind bei einer Reihe von Spezies als ein wesentlicher Bestandteil des intertubulären Gewebes identifiziert worden. Sie sind gefunden worden bei der Ratte (Christensen, 1959; Christensen und Gillim, 1969; Miller et al., 1983; Yee und Hutson, 1983; Niemi et al., 1986), beim Opossum (Fawcett et al., 1973), beim Hund (Connell und Christensen, 1975), bei der Robbe (Sinha et al., 1977), beim Hamster (Wing und Lin, 1977) und bei der Maus (Ohata, 1979). Bei der Ratte machen die Makrophagen 20% bis 25% der intertubulären Zellen aus (Miller, 1982; Niemi et al., 1986). Wie die LIC im Rinderhoden werden auch die Makrophagen des Rattenhodens in direkter Nachbarschaft zu Leydigzellen angetroffen (Miller et al., 1983). Beim Hamster besitzen fortpflanzungsfähige Tiere große und organellenreiche Hodenmakrophagen, Tiere mit atrophierten, inaktiven Hoden kleine und wenig ausdifferenzierte Makrophagen (Wing und Lin, 1977). Da Makrophagen einzelne Enzyme enthalten, welche bei der Biosynthese von Steroiden benötigt werden (Berliner et al., 1964; Vernon-Roberts, 1972; Milewich et al., 1982) und da Hodenmakrophagen der Ratte in der Kultur durch FSH-Zusatz dosisabhängig stimuliert werden können (Yee und Hutson, 1983), wird ihnen eine Hilfsfunktion bei der Androgenproduktion der Leydigzellen zugeschrieben. Weitere Funktionen der Hodenmakrophagen dürften die Präsentation von Antigenen in geeigneter Form sein, sowie die Endozytose von in das Hodeninterstitium ausgetretenen Carrierproteinen. Diese reichern sich im intertubulären Areal an, da die Kapillaren und Venulen dieser Region eine besonders große Durchlässigkeit besitzen (Aoki und Fawcett, 1975). Bleibt das aus den Blutgefäßen stammende eiweißhaltige Material im Gewebe liegen, würde das osmotische Gleichgewicht des Hodens nachhaltig beeinträchtigt. LIC vom Rind sind in der Lage, das extrazelluläre eiweißhaltige Präzipitat zu phagozytieren (Wrobel et al., 1981).

Während unsere Funde von Zwischenformen zwischen wenig differenzierten Monozyten und LIC auf einen regelmäßigen Ersatz der LIC-Population hindeuten, weisen die Experimente von Russell und Lindenbaum (1979) und Miller (1982), welche Plutonium-241 als Marker

für Hodenmakrophagen benutzten, darauf hin, daß diese Makrophagen langlebige Zellelemente sind.

4.5 Lamina propria

Der Tubulus seminiferus besitzt als äußeren Abschluß und als Grenze zum intertubulären Kompartiment eine spezifisch gebaute Lamina propria. Beim adulten Rind (Wrobel et al., 1979) besteht diese Lamina propria im wesentlichen aus zwei Komponenten. Zum einen aus der 0,4 bis 0,8 μ m dicken tubulären Basallamina, welche mit knopfförmigen Vorsprüngen die Basen der Sertolizellen und Spermatogonien invaginiert. Die Basallamina hat einen geschichteten Aufbau, indem 6 bis 9 elektronendichte Lamellen durch helle Zwischenräume separiert werden. Ein ähnlicher ebenfalls geschichteter Bau ist auch für andere Wiederkäuer, z. B. Schaf und Ziege charakteristisch (Bustos-Obregon und Courot, 1974). Die andere Komponente der Lamina propria wird durch die mehrschichtige Lage der peritubulären Zellen repräsentiert. Diese Zellen können als Myofibroblasten angesehen werden, denn sie vereinigen morphologische Merkmale von Fibrocyten mit denen von glatten Muskelzellen. Von letzteren unterscheiden sie sich durch eine geringere Anzahl von kontraktilen, 6-8 nm langen Filamenten, eine spärliche Ausbildung der elektronendichten Anheftungsstellen, durch den Besitz einer nur unvollständigen individuellen Basallamina sowie durch eine für Muskelzellen unübliche gute Ausbildung des rauhen ER. Auf der peripheren Seite sind die peritubulären Zellen des adulten Hodentubulus von basalmembranähnlichem Material und Kollagenfibrillen, oft in dichten Bündeln, umgeben. Eine darauffolgende Schicht aus flachen, typisch gebauten Fibrozyten ergänzt beim Rind wie auch bei anderen Spezies das System der tubulären Lamina propria.

Was die Entwicklung der Lamina propria des Rindes angeht, so läßt sich diese lückenlos von der ersten Anbildung durch die gesamte pränatale und postnatale Ontogenese bis zur Geschlechtsreife verfolgen. Interessanterweise laufen die Differenzierungsprozesse an den beiden wesentlichen Komponenten, Basallamina und peritubuläre Zellen, unabhängig voneinander ab. Sie scheinen außerdem ebenfalls nicht unbedingt mit den Ereignissen im Keimepithel synchronisiert zu sein. Nach den Untersuchungen von Schrag (1983) tritt eine tubuläre Basallamina erstmalig zwischen 39. und 58. Tag post conceptionem (p. c.) auf. Die Dicke der Basallamina

nimmt kontinuierlich zu und beträgt $1,2\mu\text{m}$ am 215. Tag p. c.. Der Schichtenbau der tubulären Basallamina ist erstmalig zwischen dem 60. und 70. Tag p. c. zu beobachten, wenn zwei dichte Bänder in ihr identifiziert werden können. Kontinuierliche Dickenzunahme unter Apposition neuer Lagen von elektronendichtem und hellem Material setzt sich bis in die ersten Wochen der postnatalen Periode fort. Pro Dickenzunahme um $0,1\mu\text{m}$ tritt in etwa 1 neue dichte Schicht hinzu. Mit 16 Wochen erreicht die Basallamina eine Dicke von ungefähr $3\mu\text{m}$ und weist 25 bis 30 dunkle Banden auf. Sie bildet somit zu diesem Zeitpunkt eine der dicksten epithelialen Basallaminae, über die je berichtet wurde. Die funktionelle Bedeutung dieser eigentümlichen Struktur ist nicht näher untersucht worden, aber es steht außer Zweifel, daß eine $3\mu\text{m}$ dicke Basallamina eine beträchtliche Barriere für den Stofftransport zwischen intertubulärem Kompartiment und Tubulusepithel darstellt. Gerade zu diesem Zeitpunkt vollzieht sich im Tubulus eine markante Veränderung. Die auf Proteinbiosynthese spezialisierten Stütz-
zellen der fetalen und präpuberalen Gonade beginnen ihre Transformation zu typischen Sertolizellen. Dieser Prozeß ist in der 30. Woche in etwa beendet, wenn die tubuläre Basallamina sich auf $1,5\mu\text{m}$ Dicke zurückgebildet hat (Wrobel et al., 1986) und nun eine schwächere Barrierefunktion ausübt. Mit der Ausdifferenzierung der typischen Sertolizellen bilden sich gleichfalls die Sertoli-Sertoli-Zellverbindungen aus, die im adulten Hoden die wichtigste Transportbarriere bilden. Als entscheidende Komponente der Blut-Hoden-Schranke scheiden sie im Tubulus das basale Kompartiment, in dem die Spermatogonien liegen von dem adluminalen Kompartiment, in dem sich die komplizierten Prozesse der Meiose und Spermiogenese abspielen.

Zirkumtubulär angeordnete Zellen des pränatalen Hodens wurden von Schrag (1983) als Fibroblasten beschrieben. Sie ändern bis zur 8. postnatalen Woche ihr Aussehen kaum. Wir haben diese Zellen als undifferenzierte mesenchymähnliche Zellen bezeichnet, deswegen, weil sie die inhärente Potenz besitzen, sich zu kontraktile
Zellen, Leydigzellen und Fibrozyten zu transformieren. Die Tatsache, daß diese Zellen während der gesamten Fetalzeit ihr Aussehen nicht verändern, spricht für ihre Testosteronunabhängigkeit und steht im Widerspruch zu den Ergebnissen von Bressler und Ross (1969) sowie Hovatta (1972), die zeigen konnten, daß undifferenzierte peritubuläre Zellen der Ratte sich nach Applikation

von Testosteron und FSH in myoide Zellen umwandeln. Beim Rind setzt die Transformation undifferenzierter zu kontraktile peritubulären Zellen in der 8. postnatalen Woche ein, einem Zeitpunkt, an dem die Testosteronwerte bekanntlich niedrig sind. Die Transformation beginnt in der peritubulären Zellschicht, welche direkt auf die tubuläre Basallamina folgt. Hier erscheinen Bündel von 6-8nm dicken Filamenten, elektronendichte Anheftungsstrukturen sowie mikropinozytotische Bläschen an der Zelloberfläche. Die sich differenzierenden Zellen sind durch kleine Desmosomen verbunden. Zusammen mit der ersten Anlage des kontraktile Apparates geben die Zellen eine positive Reaktion auf alkalische Phosphatase (Wrobel und El Etreby, 1971).

An den Altersstufen von 16, 20 und 25 Wochen ist ein kontinuierlicher Größenzuwachs der peritubulären Zellen und eine gleichsinnig verlaufende Vermehrung der kontraktile Binnenstrukturen zu verzeichnen. Mit 25 Wochen geben alle peritubulären Zellen eine positive Reaktion auf alkalische Phosphatase (Wrobel und El Etreby, 1971). Nachdem sich zu diesem Zeitpunkt auch ein unvollständiges System von Basallaminae um die individuellen peritubulären Zellen ausgebildet hat, ist die Differenzierung der gesamten Lamina propria der Hodentubuli zu diesem präpuberalen Zeitpunkt im Prinzip abgeschlossen. Der Tubulusdurchmesser beträgt jetzt mit etwa 100µm die Hälfte des adulten Durchmessers, die Lumenbildung in den Tubuli hat gerade begonnen, und die Spermatogenese hat noch nicht eingesetzt (Wrobel et al., 1986).

Die postnatale Ontogenese der tubulären Lamina propria, insbesondere die Transformation von undifferenzierten zu kontraktile peritubulären Zellen ist auch bei der Maus (Ross, 1967), Ratte (Kormano und Hovatta, 1972), beim Schwein (Dierichs und Wrobel, 1973), beim Schaf (Bustos-Obregon und Courot, 1974) und beim Kaninchen (Leeson and Forman, 1981) untersucht worden. Bei der Ratte ist das System der Basallaminae schon beim Neugeborenen entwickelt, die ersten Filamentbündel werden mit 15 Tagen beobachtet. Mit 25 Tagen ist die Transformation zu kontraktile peritubulären Zellen praktisch abgeschlossen (Kormano und Hovatta, 1972). Zu diesem Zeitpunkt sind im Tubulusepithel die ersten Spermatozyten zu beobachten. Beim Schwein (Dierichs und Wrobel, 1973) und Kaninchen (Leeson und Forman, 1981) erstreckt sich die lange Zeitspanne, welche benötigt wird, um die strukturelle Ausdiffe-

renzierung des kontraktiven Apparates zu bewirken, obwohl dieser Prozeß andererseits schon recht früh in der postnatalen Ontogenese beginnt. Bei beiden Tierarten werden Mikrofilamentbündel schon in den peritubulären Zellen der ersten Lebenswoche gesehen und vermehren sich in der Folgezeit kontinuierlich. Mikropinozytotische Bläschen erscheinen beim Schwein mit 97 Tagen, beim Kaninchen mit 112 Tagen. Elektronendichte Anheftungsstellen für Filamente treten beim Kaninchen mit 50 Tagen, beim Schwein mit 140 Tagen auf. Die endgültige Ausdifferenzierung der Membrana propria korrespondiert zeitlich bei beiden Tierarten mit dem Einsetzen der Spermatogenese.

Noch ein anderer Zeitablauf wird für die Differenzierung der tubulären Lamina propria des Schafes angegeben (Bustos-Obregon und Courrot, 1974). Bei dieser Spezies sind die kontraktiven peritubulären Zellen schon zum Zeitpunkt der Geburt voll differenziert und verändern sich während der weiteren Ontogenese praktisch nicht mehr; dies trotz drastischer Zunahme von Tubulusdurchmesser und -länge sowie wechselnder hormoneller Signale während der weiteren Entwicklung. Präpuberale Hypophysektomie hat genauso wenig einen Einfluß auf die Entwicklung des intrazellulären kontraktiven Inventars wie zusätzliche Zufuhr von LH und FSH.

Alle diese Ergebnisse zeigen sehr deutlich, daß die morphologische Ausdifferenzierung der tubulären Lamina propria bei den einzelnen Tierarten einem eigenen Entwicklungsplan folgt und ferner, daß Testosteron und FSH nicht als die entscheidenden Faktoren für die Transformation undifferenzierter in kontraktile peritubuläre Zellen angesehen werden dürfen, wie dies nach den experimentellen Daten von Bressler und Ross (1969) und Hovatta (1972) am Rattenhoden allgemein getan wird. Die Mitwirkung von bislang unbekannten, vielleicht lokalen Faktoren bei der Ausbildung der tubulären Lamina propria wird auch durch die Ergebnisse von Strübing (1986) wahrscheinlich gemacht. Sie konnte an Hodenkulturen vom Rind, welche in einem unsubstituierten Minimalmedium gehalten wurden, keine Dedifferenzierung der peritubulären Myofibroblasten beobachten, wie eigentlich zu erwarten war, sondern im Gegenteil eine progressive Entwicklung dieser Zellen in Richtung auf glatte Muskulatur.

5. Zusammenfassung

Es wurden 31 Rinderhoden von der 4. bis zur 78. Lebenswoche licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Aus dem perfusionsfixierten Organ wurde an 3 verschiedenen Entnahmestellen, retenah (B), zentral (C) und subtunikal (D), Gewebe entnommen. Das Hodengewebe wurde auf regionale Unterschiede hin untersucht und die Änderungen in der zellulären Zusammensetzung des intertubulären Areals studiert.

Der Anteil der Tubuli seminiferi vergrößert sich im Laufe der Entwicklung von 50% bei 4 Wochen alten Kälbern in dem Maße, wie der Anteil des intertubulären Areals vermindert wird. Bei adulten Bullen beträgt der Anteil der Tubuli seminiferi 85%, der Anteil des intertubulären Bereiches 15%. Das Hodengewebe zeigt während der Ontogenese keine homogene Verteilung von Tubuli seminiferi und intertubulärem Areal in den verschiedenen Entnahmestellen. Auf Grund der stärkeren Vaskularisation unterscheiden sich die retenahen und zentralen Areale vom subtunikalem Bereich signifikant voneinander.

Die Zellen im intertubulären Bereich können den mesenchymähnlichen Zellen, Leydigzellen, Bindegewebszellen, mononukleären Zellen und peritubulären Zellen zugerechnet werden.

Mesenchymähnliche Zellen dominieren in der 4. und 8. Woche. Sie sind pluripotent. Mitosen werden in der 4. und 8. Woche häufig beobachtet. Mesenchymähnliche Zellen sind Vorläufer von Fibrozyten, peritubulären Zellen und Leydigzellen.

Leydigzellen sind von der 4. Woche an konstant anzutreffen. Neben jungen postnatalen Leydigzellen werden Areale degenerierender fetaler Leydigzellen beobachtet. Durch Differenzierung mesenchymähnlicher Zellen zu Leydigzellen und durch Mitosen von Leydigzellen steigt ihr Anteil auf 35% bei 52 Wochen alten Tieren an. Eine weitere Degenerationswelle, die einige der postnatal gebildeten Leydigzellen betrifft, kann von der 16. bis zur 30. Entwicklungswoche konstatiert werden. Leydigzellen, die diese Phase überleben, sind den langlebigen adulten Leydigzellen zuzurechnen. Mononukleäre Zellen werden in beträchtlicher Anzahl im Hoden angetroffen und ändern ihren Anteil kaum. Sie bilden keine einheitliche Zellpopulation. Lymphozyten, Plasmazellen, Monozyten,

Makrophagen und Light Intercalated Cells (LIC) werden angetroffen.

Die peritubulären Zellen sind ein Teil der Lamina propria. Sie differenzieren sich ab der 8. Lebenswoche aus mesenchymähnlichen Zellen, die um die Tubuli seminiferi liegen, zu kontraktilen Myofibroblasten. Diese Transformation ist mit 25 Wochen abgeschlossen. Die tubuläre Basallamina zeigt eine Schichtung und nimmt vom Untersuchungsbeginn bis zur 16. Woche an Dicke zu, erreicht zu diesem Zeitpunkt eine Stärke von ca. $3\mu\text{m}$, um sich in der weiteren postnatalen Entwicklung wieder abzuflachen.

6. Summary

Histological, morphometric and ultrastructural studies on the postnatal development of the male bovine gonad

Testes of 31 bovine males ranging from 4 to 78 weeks were studied light and electron microscopically. All gonads were fixed by vascular perfusion. Tissue samples were taken from different locations (B: close to rete testis, C: central parenchym, D: subtunical area) of each testis. Special consideration was given to regional differences and to changes in the numerical composition of the intertubular cells.

In the 4-week-old calf intertubular tissue furnishes approx. 50% of the testicular volume and diminishes to approx. 15% in the adult animal. During ontogenesis the distribution of tubules and intertubular tissue varies within the three locations, primarily due to a different pattern of vascularization.

The cells in the intertubular region are mesenchymal cells, fibroblasts, Leydig cells, mononuclear cells and peritubular cells.

Mesenchyme-like cells are dominating in weeks 4 and 8. These cells are the potential precursors of fibroblasts/fibrocytes, Leydig cells and peritubular cells. Mitoses are frequently observed in the population of mesenchyme-like cells.

Leydig cells are a constant feature in the postnatal bovine testis of all age groups. In the 4th week young postnatal Leydig cells are found side by side with degenerating fetal Leydig cells. The number of postnatal Leydig cells increases by differentiation of mesenchyme-like precursors and by mitosis of young Leydig cells and reaches 35% (numerically) of all intertubular cells in the 52-week-old bull. During 16 through 30 weeks a phase of degeneration affects the postnatal Leydig cell population. Leydig cells which survive this degenerative period form the final adult population.

Mononuclear cells are a constant element of testicular intertubular region. Their number changes little with age. Mononuclear cells are no uniform population. They consist of lymphocytes,

plasma cells, monocytes, macrophages and LIC (light intercalated cells), a special monocytic cell of the bovine testis.

The two main constituents of the tubular lamina propria are the basal lamina and the peritubular cell sheath. Peritubularly arranged mesenchyme-like cells develop stepwise to contractile myofibroblasts, starting at 8 weeks. This morphological transformation is completed with 25 weeks. The tubular basal lamina is banded and increases steadily in thickness in early postnatal life, to reach approx. $3\mu\text{m}$ at week 16. From thereon the basal lamina flattens continuously but retains its laminated appearance also in adult life.

7. Literatur

- Abdel-Raouf M (1960) The postnatal development of the reproductive organs in bulls with special reference to puberty. *Acta endocr (Kbh)* Supp 49
- Amann RP (1962) Reproductive capacity of dairy bulls. III The effect of ejaculation frequency, unilateral vasectomy, and age on spermatogenesis. *Amer J Anat* 110:49-67
- Aoki A, Fawcett DW (1975) Impermeability of Sertoli cell junctions to prolonged exposure to peroxidase. *Andrologia* 7:63-76
- Attal J, Courot M (1963) Développement testiculaire et établissement de la spermatogenèse chez le taureau. *Ann Biol anim Biochim Biophys* 3:219-241
- Bascom KF (1923) The interstitial cells of the gonads of cattle with special reference to their embryonic development and significance. *Amer J Anat* 31:223-259
- Berliner DL, Nabors CJ, Dougherty TF (1964) The role of hepatic and adrenal reticuloendothelial cells in steroid biotransformation. *J Reticuloendothel Soc* 1:1-17
- Bressler RS, Ross MH (1969) Pituitary involvement in testicular peritubular cell maturation. *Anat Rec* 163:158-159
- Bustos-Obregón E, Courot M (1974) Ultrastructure of the lamina propria in the ovine seminiferous tubule. Development and some endocrine considerations. *Cell Tissue Res* 150:481-492
- Christensen AK (1959) The fine structure of the interstitial tissue of the rat testis at various ages and after experimental treatment. *Anat Rec* 133:367
- Christensen AK, Gillim SW (1969) The correlation of fine structure and function in steroid-secreting cells with emphasis on those of the gonads. In: *The Gonads*, MCKerns KW ed. Appleton-Century-Crofts, New York pp 415-488
- Connell CJ, Christensen AK (1975) The ultrastructure of the canine testicular interstitial tissue. *Biol Reprod* 12:368-382
- Curtis SK, Amann RP (1981) Testicular development and establishment of spermatogenesis in Holstein bulls. *J Anim Sci* 53:1645-1657
- Dierichs R, Wrobel KH (1973) Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an den peritubulären Zellen des Schweinehodens während der postnatalen Entwicklung. *Z Anat Entwickl Gesch* 143:49-64
- Fawcett DW, Neaves WB, Flores MN (1973) Comparative observations on intertubular lymphatics and the organization of the interstitial tissue of the mammalian testis. *Biol Reprod* 9:500-532

- Forssmann WG, Ito S, Weihe E, Aoki A, Dym M, Fawcett DW (1977) An improved perfusion fixation method for the testis. *Anat Rec* 188:307-314
- Fossland RC, Schultze AB (1961) A histological study of the postnatal development of the bovine testis. *Res Bull Univ Nebraska agric exper Stat* 199:3-16
- Hay MF, Lindner HR, Mann T (1961) Morphology of bull testes and seminal vesicles in relation to testicular androgens. *Proc Roy Soc London Ser B* 154:433-448
- Hooker CW (1944) The postnatal history and functions of the interstitial cells of the testis of the bull. *Amer J Anat* 74:1-38
- Hovatta O (1972) Effect of androgens and antiandrogens on the development of the myoid cells of the rat seminiferous tubules (organ culture). *Z Zellforsch* 131:299-308
- Hullinger RL, Wensing CJG (1985) Testicular organogenesis in the fetal calf: interstitial endocrine (Leydig) cell development. *Acta anat* 121:99-109
- Humphrey JD, Ladds PW (1975) A quantitative histological study of changes in the bovine testis and epididymis associated with age. *Res Vet Sci* 19:135-141
- Jerusalem C (1963) Eine kleine Modifikation der Goldner-(Masson)-Trichromfärbung. *Z wiss Mikr* 65:320-321
- Kormano M, Hovatta O (1972) Contractility and histochemistry of the myoid cell layer of the rat seminiferous tubules during postnatal development. *Z Anat Entwickl Gesch* 137:239-248
- Leeson CR, Forman DE (1981) Postnatal development and differentiation of contractile cells within the rabbit testis. *J Anat* 132:491-511
- Milewich L, Chen GT, Lyons C, Tucker TF, Uhr JW, MacDonald PC (1982) Metabolism of androstendione by guinea-pig peritoneal macrophages: synthesis of testosterone and 5 α -reduced metabolites. *J Steroid Biochem* 17:61-65
- Miller SC (1982) Localization of plutonium-241 in the testis. An interspecies comparison using light and electron microscope autoradiography. *Int J Radiat Biol* 41:633-643
- Miller SC, Bowman BM, Rowland HG (1983) Structure, cytochemistry, endocytic activity, and immunoglobulin (Fc) receptors of rat testicular interstitial-tissue macrophages. *Amer J Anat* 168:1-13
- Niemi M, Sharpe RM, Brown WRA (1986) Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis. *Cell Tissue Res* 243:337-344
- Nistal M, Paniagua R, Regadera J, Santamaria L, Amat P (1986) A quantitative morphological study of human Leydig cells from birth to adulthood. *Cell Tissue Res* 246:229-236

- Ohata M (1979) Electron microscopic study on the testicular interstitial cells in the mouse. Arch histol jap 42:51-79
- Rasch D (1983) Biometrie. Einführung in die Biostatistik. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag Berlin
- Reynolds EG (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 17:208-212
- Ross MH (1967) The fine structure and development of the peritubular contractile cell component in the seminiferous tubules of the mouse. Amer J Anat 121:523-558
- Russell JJ, Lindenbaum A (1979) One-year study of nonuniformly distributed plutonium in mouse testis as related to spermatogonial irradiation. Health Phys 36:153-157
- Santamarina E, Reece RP (1957) Normal development of the germinal epithelium and seminiferous tubules in the bull. Amer J Vet Res 18:261-278
- Scheubeck M, Wrobel KH (1984) Eine einfache transportable Apparatur zur Durchführung von Perfusionsfixierungen. Mikroskopie 41:108-111
- Schrag D (1983) Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur fetalen Differenzierung der männlichen Keimdrüse des Rindes. Inaug Diss LMU München
- Schwark HJ, Lühmann P, Carl WD (1972) Untersuchungen an Hoden von Jungbull. 1. Mitt.: Die Entwicklung der Hoden und deren Beziehung zur Alters- und Körpermasseentwicklung und zu einigen Spermaeigenschaften. Monatsh Veterinärmed 27:172-176
- Sinha AA, Erickson AW, Seal US (1977) Fine structure of Leydig cells in crabeater, leopard and Ross seals. J Reprod Fert 49:51-54
- Sinowatz F, Wrobel KH, Fischerleitner F, Schilling E (1983) Morphologische Aspekte der postnatalen Hodendifferenzierung. Wien tierärztl Mschr 70:194-197
- Spurr AR (1969) A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J Ultrastruct Res 26:31-43
- Ströbel H (1967) Histometrische Untersuchungen am Hodeninterstitium von Stieren mit Störungen der Spermatogenese und der Libido. Inaug Diss LMU München
- Strübing Ch (1986) Morphologische Veränderungen in nicht hormonsubstituierten Organkulturen von Hodenparenchym adulter männlicher Rinder. Dipl Arb (Biol) Regensburg
- Swierstra EE (1966) Structural composition of shorthorn bull testes and daily spermatozoa production as determined by quantitative testicular histology. Can J Anim Sci 46:107-119

- Van der Waerden BL(1957) Mathematische Statistik. In: Die Grundlehren der mathematischen Wissenschaften. Herausgegeben von Grammel R, Hopf E, Schmidt FK, van der Waerden BL, Springer Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg, p 350
- Vernon-Roberts B (1972) The Macrophage. University Press, Cambridge
- Wing TY, Lin HS (1977) The fine structure of testicular interstitial cells in the adult golden hamster with special reference to seasonal changes. Cell Tissue Res 183:385-393
- Wrobel KH, El Etreby MF (1971) Enzymhistotopochemie an der männlichen Keimdrüse des Rindes während ihrer fetalen und postnatalen Entwicklung. Histochemie 26:160-179
- Wrobel KH, Mademann R, Sinowatz F (1979) The lamina propria of the bovine seminiferous tubule. Cell Tissue Res 202:357-377
- Wrobel KH, Schilling E, Dierichs R (1973) Enzymhistochemische Untersuchungen an den Leydigzellen des Schweines während der postnatalen Ontogenese. Histochemie 36:321-333
- Wrobel KH, Schilling E, Zwack M (1986) Postnatal development of the connexion between tubulus seminiferous and tubulus rectus in the bovine testis. Cell Tissue Res 246:387-400
- Wrobel KH, Sinowatz F, Mademann R (1981) Intertubular topography in the bovine testis. Cell Tissue Res 217:289-310
- Wrobel KH, Sinowatz F, Kugler P (1978) Zur funktionellen Morphologie des Rete testis, der Tubuli recti und der Terminalsegmente der Tubuli seminiferi des geschlechtsreifen Rindes. Zentralbl Veterinaermed [C] Anat Histol Embryol 7:320-335
- Yee JB, Hutson JC (1983) Testicular macrophages: isolation, characterization and hormonal responsiveness. Biol Reprod 29:1319-1326

Für die Überlassung des Themas, für sein Vertrauen sowie für seine ständige engagierte Unterstützung danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. K.-H. Wrobel.

Herrn Dr. E. Schilling, Mariensee, bin ich für seine Mithilfe bei der Materialbeschaffung dankbar.

Frau J. Hees, Frau S. Geserer und Frau M. Schimmel bin ich für mannigfache und häufige technische Hilfe zu Dank verpflichtet.

Ferner danke ich den Herren Dr. M. Scheubeck für die Einführung in die Textverarbeitung und Herrn W. Fleischmann für seine zahlreichen Hilfestellungen.

Für die Ausführung der umfangreichen photographischen Arbeiten möchte ich Frau K. Dassler und Herrn O. Siegert danken.

Außerdem gilt mein Dank Dr. Elsaesser vom Institut für Tierzucht und Tierverhalten der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft Braunschweig-Völkenrode für die Bestimmung der Testosteronkonzentration im peripheren Blut.

Lebenslauf

Name: Stefanie Anna Dostal
Geburtstag: 20. Dezember 1952
Geburtsort: Langquaid, Kreis Kelheim
Staatsangehörigkeit: deutsch
Eltern: Dr. Viktor Dostal und
Kreszenz Dostal, geb. Will

1959 - 1963 Volksschule Langquaid
1963 - 1973 neusprachliches Gymnasium Seligenthal in
Landshut
Abschluß allgemeine Hochschulreife
1973 - 1977 Orientierungsstudium
1976 - 1977 soziales Jahr
1977 - 1983 Studium der Tiermedizin
1983 Approbation als Tierärztin
Nov. 84 - Juli 86 Wiss. Hilfskraft am Institut für Anatomie
der Universität Regensburg
Seit März 1983 Mitarbeit in der tierärztlichen Praxis.

